FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNEE 1966

N° 422

THÈSE

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

DIPLOME D'ETAT

PAR

Marc THOMAS

né le 11 Mai 1939 à BARENTIN (Seine-Maritime)

Licencié ès-sciences

Ancien Externe des Hôpitaux de Paris

Attaché-assistant de Biochimie à la Faculté de Médecine de Paris

Attaché-assistant de Biochimie à l'Hôpital des Enfants Malades

---

Présentée et soutenue publiquement le :

LES MUCOPOLYSACCHARIDES URINAIRES

Président : M. P. CARTIER, Professeur.

EDITIONS A.G.E.M.P. — 8, RUE DANTE - PARIS-Ve

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNEE 1966 N°

THÈSE

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

DIPLOME D'ETAT

PAR

Marc THOMAS

né le 11 Mai 1939 à BARENTIN (Seine-Maritime)

Licencié ès-sciences

Ancien Externe des Hôpitaux de Paris

Attaché-assistant de Biochimie à la Faculté de Médecine de Paris

Attaché-assistant de Biochimie à l'Hôpital des Enfants Malades

---

Présentée et soutenue publiquement le :

LES MUCOPOLYSACCHARIDES URINAIRES

Président : M. P. CARTIER, Professeur.

EDITIONS A.G.E.M.P. — 8, RUE DANTE · PARIS-Ve

UNIVERSITEITSBIBLIOTHEEK - LEIDEN

1/1/1966

PROFESSEURS HONORAIRES :

MM. Alajouanine (T.), Aubin (A.), Bénard (H.), Binet (L.), Bulliard (H.), Cathala (J.), Chabrol (E.), Chailley-Bert (P.), Debré (R.), Fey (B.), Gailliard (H.), Gaudart d'Allaines (F. de), Gennes (L. de), Halphen (E.), Hazard (R.), Heuyer (G.), Laroche (G.), Lavier (G.), Lelong (M.), Lévy-Solal (E.), Lian (C.), Marchal (G.), Mathieu (P.), Monod (R.), Moreau (R.), Moulonguet (P.), Pasteur Vallery-Radot, Petit-Dutaillis (D.), Piédelièvre (R.), Quénu (J.), Renard (G.), Richet (C.), Senèque (J.), Strohl (A.), Tanon (L.), Verne (J.).

DOYEN . . . . . Georges BROUET.

1er ASSESSEUR . . . . . Daniel BARGETON

2e ASSESSEUR . . . . . Jean GOSSET

I. — PROFESSEURS

1° CHAIRES DE SCIENCES FONDAMENTALES

a) Professeurs titulaires :

	MM.
Anatomie	DELMAS (A.)
Anatomie et cytologie pathologiques	DELARUE (J.)
Anesthésiologie	BAUMANN (J.)
Bactériologie et virologie	TOURNIER (P.)
Biochimie médicale	JAYLE (M.-F.)
—	POLONOVSKI (J.)
Biologie appliquée à l'Education physique et aux Sports	MALMEJAC (J.)
Biologie médicale	FAUVERT (R.)
Biophysique médicale	BUGNARD (L.)
—	DOGNON (A.)
—	DJOURNO (A.)
Cancérologie médicale et sociale	DENOIX (P.)
Chimie pathologique	SCHAPIRA (G.)
Embryologie	TUCHMANN (H.)
Génétique fondamentale	LEJEUNE (J.)
Histoire de la médecine et de la chirurgie	COURY (Ch.)
Histologie	GIROUD (A.)
Hygiène et médecine préventive	BOYER (J.)
Médecine du Travail	DESOILLE (H.)
Médecine légale	DEROBERT (L.)
Microbiologie (Bactériologie et virologie)	FASQUELLE (R.)
Parasitologie	BRUMPT (L.-C.)
Pathologie chirurgicale	LAURENCE (G.)
—	KUSS (R.)
—	VERNE (J.-M.)
Pathologie exotique	N...
Pathologie expérimentale et comparée	MERKLEN (F.-P.)
Pathologie médicale	LAROCHE (Cl.)
—	BRICAIRE (H.)
—	PÉQUIGNOT (H.)
Pathologie respiratoire	TURIAF (J.)
Pathologie et thérapeutique générales	N...
Pharmacologie	CHEYMOL (J.)
—	LEVY (Mlle J.)
Physiologie	BARGETON (D.)
—	PARROT (J.)
Physiologie et pathologie obstétricales	LEPAGE (F.)
Radiologie médicale	DESGREZ (H.)

	MM.
Technique chirurgicale et Chirurgie expérimentale	CAUCHOIX (J.)
Thérapeutique	CONTE (M.)
Thérapeutique appliquée	LAMOTTE (M.)

b) **Professeurs à titre personnel :**

Anatomie anthropologique	OLIVIER (G.)
Anatomie pathologique	NEZELOF (Ch.)
Bactériologie	BARBIER (P.)
Biochimie médicale	DESGREZ (P.)
	DREYFUS (J.-Cl.)
Biologie médicale	BOURLIÈRE (F.)
Histologie	COUJARD (R.)
Parasitologie	LARIVIÈRE (M.)
Pathologie expérimentale	LOEPER (J.)
	RICHET (G.)
Physiologie	DEJOURS (P.)
	ROUCAYROL (J.-Cl.)
	SCHERRER (J.)
Physique médicale	KELLERSHOHN (L.)
	GOUGEROT (L.)
	TUBIANA (M.)
Radiologie médicale	FISCHGOLD (H.)

2° CHAIRES DE SCIENCES CLINIQUES

a) **Professeurs titulaires :**

		MM.
Clinique carcinologique chirurgicale (Necker)		REDON (H.)
Clinique cardiologique (Broussais)		SOULIÉ (P.)
— — (Boucicaut)		LENÈGRE (J.)
Cliniques chirurgicales	Beaujon	LORTAT-JACOB (J.-L.)
	—	N...
	Cochin	LEGER (L.)
	Hôtel-Dieu	PATEL (J.)
	Saint-Antoine	GOSSET (J.)
	Salpêtrière	SICARD (A.)
	Tenon	OLIVIER (Cl.)
Clinique chirurgicale orthopédique et traumatologique (Cochin)		MERLE d'AUBIGNÉ (R.)
— — — (Foch)		PADOVANI (P.)
Clinique de chirurgie infantile et orthopédique (Enfants-Malades)		FÈVRE (M.)
Clinique de chirurgie cardio-vasculaire (Broussais)		DUBOST (Ch.)
Clinique de chirurgie pleuro-pulmonaire (Laennec)		MATHEY (J.)
Clinique dermatologique (Saint-Louis)		DUPERRAT (F.)
Clinique endocrinologique (Pitié)		DECOURT (J.)
Clinique de Génétique médicale (Enfants-Malades)		LAMY (M.)
Clinique gynécologique (Broca)		HUGUIER (J.)
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques (Saint-Louis)		DEGOS (R.)
Clinique des maladies des enfants (Enfants-Malades)		TURPIN (R.)
Clinique des maladies infectieuses (Claude-Bernard)		MOLLARET (P.)
Clinique des maladies mentales et de l'encéphale (Sainte-Anne)		DELAY (J.)
Clinique des maladies métaboliques (Necker)		HAMBURGER (J.)
Clinique des maladies du sang (Broussais)		BERNARD (J.)
Clinique des maladies du système nerveux (Salpêtrière)		CASTAIGNE (P.)
Cliniques médicales	Bicêtre	DEPARIS (M.)
	Broussais	MILLIEZ (P.)
	Cochin	BROUET (G.)
	Hôtel-Dieu	BARIÉTY (M.)
	Lariboisière	SÈZE (S. de)
	Pitié	DREYFUS (G.)
	Saint-Antoine	KOURILSKY (R.)
	Saint-Antoine	BOUDIN (G.)

	MM.
Clinique d'hydrologie et de climatologie (Bichat)	DEBRAY (Ch.)
Clinique médicale infantile et pédiatrie sociale (Enfants-Malades)	MARIE (J.)
Clinique médicale propédeutique (Broussais)	JUSTIN-BESANÇON (L.)
Clinique médico-sociale du diabète sucré et des maladies de la nutrition (Hôtel-Dieu)	DEROT (M.)
Clinique de neuro-chirurgie (Pitié)	DAVID (M.)
Clinique neurologique (Salpêtrière)	GARCIN (R.)
Cliniques obstétricales — Baudelocque	LACOMME (M.)
Cliniques obstétricales — Saint-Antoine	MERGER (R.)
Clinique obstétricale et gynécologique (Port-Royal)	VARANGOT (J.)
Clinique ophtalmologique (Hôtel-Dieu)	OFFRET (G.)
— — (Cochin)	BREGEAT (P.)
Clinique oto-rhino-laryngologique (Lariboisière)	AUBRY (M.)
Clinique de pédiatrie	MOZZICONACCI (P.)
Clinique de pédiatrie et de puériculture (Saint-Vincent-de-Paul)	THIEFFRY (S.)
Clinique de pneumo-phtisiologie (Laennec)	BERNARD (E.)
Clinique de neuro-psychiatrie infantile (Salpêtrière)	MICHAUX (L.)
Clinique de rhumatologie médicale et sociale (Cochin)	COSTE (F.)
Clinique stomatologique (Salpêtrière)	DECHAUME (M.)
Clinique thérapeutique chirurgicale (Vaugirard)	ROUX (M.)
Clinique thérapeutique médicale (Saint-Antoine)	LEMAIRE (A.)
Clinique toxicologique	GAULTIER (M.)
Clinique traumatologique et orthopédique (R.-Poincaré)	JUDET (R.)
Clinique urologique (Cochin)	ABOULKER (P.)
— — (Necker)	COUVELAIRE (R.)
Hygiène et clinique de la première enfance (Trousseau)	LAPLANE (R.)
Séméiologie médicale (A. Chantin)	DOMART (A.)
— — (Lariboisière)	BOUVRAIN (Y.)
— — (Pitié)	RAMBERT (P.)
— — (Rothschild)	WOLFROMM (R.)
Séméiologie et clinique chirurgicales (Broussais)	POILLEUX (F.)

b) **Professeurs à titre personnel :**

Hématologie	ANDRÉ (R.)
	BOUSSER (J.)
Hydrologie et climatologie	GIBERTON (A.)
Maladies infectieuses	BASTIN (R.)
Médecine	AZERAD (E.)
	BOUR (H.)
	CABROL (Ch.)
	GROSSIORD (A.)
	LAMBLING (A.)
	LAUNAY (Cl.)
	PAYET (M.)
	PERRAULT (M.)
	SIGUIER (F
	WORMS (R.)
Neuro-chirurgie	LE BEAU (J.)
Neurologie	LHERMITTE F.
Neuro-psychiatrie	PICHOT (P.)
Oto-Rhino-Laryngologie	MADURO (R.)
Pédiatrie	POLONOVSKI (Cl.)
	ROYER (P.)
Pneumo-Phtisiologie	KREIS (B.)
	MEYER (A.)
Rhumatologie	DELBARRE (F.)

II. — PROFESSEURS SANS CHAIRE

	MM.
Anatomie pathologique	GOUYGOU (Ch.)
Anesthésiologie	VOURC'H (G.)
Bactériologie	CHRISTOL (D.)
Biochimie médicale	CARTIER (P.) GONNARD (P.)
Biologie médicale	HARTMANN (L.)
Hématologie	BILSKI-PASQUIER (G.)
Maladies infectieuses	DUPONT (V.)
Physique médicale	COURSAGET (J.) GREMY (F.)
Physiologie	GIRARD (Fr.)
Stomatologie	CHAPUT (Mme A.)
Thérapeutique	CHASSAGNE (P.)

III. — PROFESSEURS DÉTACHÉS DANS LES UNIVERSITÉS ÉTRANGÈRES

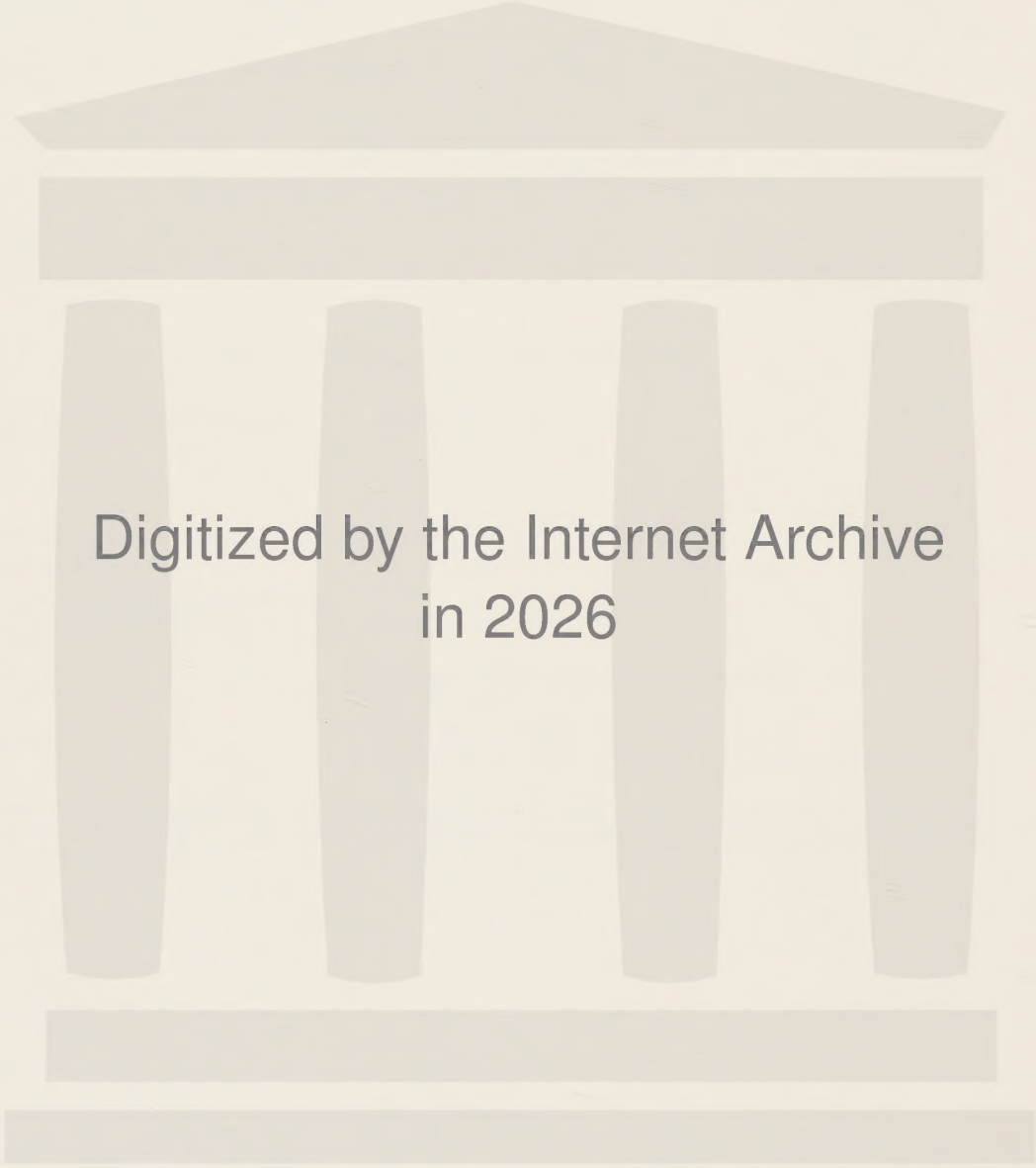
Bactériologie	HAUDUROY (P.) Pr. s. ch
Pathologie chirurgicale	RUDLER (J.) Pr. s. ch.

IV. — PROFESSEUR ASSOCIÉ

Statistique médicale et épidémiologique	SCHWARTZ (D.)

Secrétaire général de la Faculté	M. LENA (J.)
Conseillers administratifs	Mlle CHAINTREUIL (G.) M. FAYE (R.)
Conservateur en Chef de la Bibliothèque Conservateur du Musée d'Histoire de la Médecine	M. le Docteur HAHN (A.)
Conservateurs	Mlles DUMAITRE (P.), LAURENT (H.), LE NOIR (G.),
Bibliothécaires	Mmes CONTET (J.), FORGET (F.), Mlles DUROZOY (M.-F.), ROBERGE (D.), Dr SCHILLER (J.)

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'Ecole a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.


Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41544317_0003

ARCHIVES

A Monsieur le Professeur CARTIER

qui a choisi le sujet de cette thèse et a bien voulu en accepter la présidence.

Qu'il veuille bien trouver ici l'expression de ma profonde gratitude.

A mes Maitres dans les Hopitaux.

A Monsieur le Docteur . . THOMAS.

A Monsieur le Docteur M. HEDOUIN.

L A V

PREMIERE PARTIE

Chapitre 1 : Structure et répartition des mucopolysaccharides acides.

Chapitre 2 : Métabolisme et rôle physiologiques des mucopolysaccharides acides.

DEUXIEME PARTIE

Technique d'analyse des mucopolysaccharides acides.

TROISIEME PARTIE

Syndromes pathologiques en rapport avec une anomalie de l'excrétion des mucopolysaccharides acides.

INTRODUCTION

Ce n'est que depuis une quinzaine d'années que l'on a associé à certaines maladies osseuses de l'enfant à caractères héréditaires, une perturbation du métabolisme des mucopolysaccharides acides. Ces acquisitions qui éclairent d'un jour nouveau la pathogénie de ces affections ont été rendues possibles par les progrès récents de la biochimie des mucopolysaccharides acides. La structure de ces macromolécules est actuellement établie et des techniques de séparation et de dosage ont été mises au point et appliquées à l'exploration clinique, par les travaux de K. MEYER et A. DORFMAN.

Nous nous sommes proposés dans ce travail, d'étudier les mucopolysaccharides urinaires chez l'homme normal puis dans les cas pathologiques où leur excrétion est modifiée.

Il nous a cependant paru utile dans une première partie, de rappeler les notions actuelles concernant la structure, la répartition, le métabolisme et les roles physiologiques de ces mucopolysaccharides acides.

Dans la deuxième partie, nous analyserons les techniques d'identification et de dosage des divers constituants du groupe mucopolysaccharidique.

Enfin, dans la troisième partie, nous étudions les états pathologiques qui sont en rapport avec des modifications urinaires des mucopolysaccharides acides.

ABREVIATIONS

M.P.S	:	Mucopolysaccharides.
M.P.S$_a$	:	Mucopolysaccharides acides.
A.T.P	:	Acide Adénosine Tri Phosphorique.
A.D.P	:	Acide Adénosine Di Phosphorique.
U.T.P	:	Acide Uridine Tri Phosphorique.
U.D.P	:	Acide Uridine Di Phosphorique.
D.P.N ou NAD	:	Diphosphopyridine nucléotide.
T.P.N ou NADP	:	Triphosphopyridine nucléotide.
A.P.S	:	Adénosine 5' Phospho sulfate.
P.A.P.S	:	3' Phospho adénosine 5' phosphosulfate.
H.A.	:	Acide hyaluronique.
U.D.P. Gal	:	Uridine Di Phosphogalactose.
U.D.P. Glu N Ac	:	U.D.P. N Acétyl glucosamine.
Glu N Ac	:	N Acétyl glucosamine.
Gal N Ac	:	N Acétyl galactosamine.

PREMIERE PARTIE

STRUCTURE ET REPARTITION (17-25-71-72-73-101-132)

Les mucopolysaccharides acides (MPS_A) sont des polyhosides de poids moléculaire élevé (compris entre 15.10^3 et 1.10^5), constitués par la répétition de motifs saccharidiques (50 à 50 000) ou les hexosamines représentent un constituant constant.

Le caractère acide est conféré par la distribution régulière sur la chaine polyholosidique :

- soit de carboxyles libres, -COOH, correspondant au C_6 d'acides uroniques.
- soit de groupements sulfates (sous forme d'esters sulfuriques).
- soit des deux groupements acides simultanément.

a) Nomenclature

La nomenclature des muco-polysaccharides acides prête à une certaine confusion qui provient de ce que un meme composé est désigné sous différents noms synonymes.

Actuellement, parmi les mucopolysaccharides acides qui ont été isolé, huit ont une structure définie. Dans le tableau 1, nous résumons les données concernant la structure des mucopolysaccharides dont le role sera discuté dans ce travail. L'héparine et l'héparitine sulfate ne figurent pas dans ce tableau, car ces mucopolysaccharides acides, doués d'une activité physiologique différente, ont une structure plus complexe qui n'est pas encore défini avec certitude.

Nomenclature	Ose n° 1	Liaison entre les 2 oses	Ose aminé	Liaison entre les dimères	SO_4
Acide hyaluronique (A)	Acide D glycuronique	1 - 3	D glucosamine - N Acétyl	1 - 4	-
Chondroitine-4-sulfate ou Chondroitine sulfate A	Acide D glycuronique	1 - 3	D galactosamine - N Acétyl	1 - 4	C_4
Chondroitine-6-sulfate ou Chondroitine sulfate C	Acide D glycuronique	1 - 3	D galactosamine - N Acétyl	1 - 4	C_6
Dermatane sulfate ou Chondroitine sulfate B	Acide L iduronique	1 - 3	D galactosamine - N Acétyl	1 - 4	C_4
Kerato sulfate	D galactose	1 - 4	D glucosamine - N Acétyl	1 - 3	C_6

Tableau 1 -

Structure des mucopolysaccharides acides.

On peut faire, sur la structure des mucopolysaccharides acides rassemblés dans ce tableau, un certain nombre de remarques :

1° Ces mucopolysaccharides acides résultent de la polymérisation d'une unité monomère disaccharidique constitués par l'association osidique d'un sucre aminé N acétylé et d'un acide uronique ou d'un ose.

2° Dans tous les cas, les liaisons glycosidiques sont du type β, et ceci, aussi bien à l'intérieur de l'unité diholosidique qu'dans l'association au cours de la polymérisation des unités diholosidiques entre elles.

3° Tous les sucres aminés sont acétylés sur leur azote en position 2.

PROPRIETES DE LA LIAISON OSIDIQUE

Les mucopolysaccharides acides sont donc des polymères d'unités disaccharidiques. Les différentes liaisons entre ces sucres sont du type β-osidique, c'est-à-dire que l'union est réalisée entre la fonction pseudo aldéhydique d'un sucre et une fonction alcool du suivant.

1 - Ainsi, comme tous les glucosides, les mucopolysaccharides acides sont solubles dans l'eau. En fait, les molécules étant fortement électronégatives, cette solubilité varie largement en fonction du pH. Elle est notamment beaucoup plus importante en milieu alcalin.

2 - Cette électronégativité remarquable explique également que les mucopolysaccharides forment avec les sels d'ammonium quaternaire des complexes insolubles. C'est sur cette propriété

qu'est basée la méthode la plus employée de séparation des différents mucopolysaccharides.

3 - La liaison osidique est hydrolysable.

Cette hydrolyse en milieu acide, scinde la molécule des mucopolysaccharides en éléments de plus en plus petits, formant surtout des résidus disaccharidiques : les acides aldobiuroniques.

4 - Enfin, la liaison osidique est sensible à certains hydrolases spécifiques. Ces enzymes agissant sur les mucopolysaccharides sont peu nombreux. En fait, un seul est à l'heure actuelle bien défini : la hyaluronidase (17). On le rencontre chez de nombreux Microorganismes (tel le streptocoque hémolytique) et dans différents venins de serpents.

Chez les animaux supérieurs et plus particulièrement chez l'homme, sa présence n'a été démontrée avec certitude que dans le testicule et il joue un rôle important dans la fécondation, en permettant aux spermatozoïdes de franchir la barrière d'acide hyaluronique qui protège l'ovule. Certains auteurs l'ont trouvé dans d'autres organes : peau, rate, cornée. Mais les méthodes utilisées pour le détecter ne permettent pas de tirer de conclusions définitives sur sa répartition.

L'hyaluronidase provoque une coupure hydrolytique entre le β N Acétyl glucosamine et le C 4 de l'acide β glycuronique.

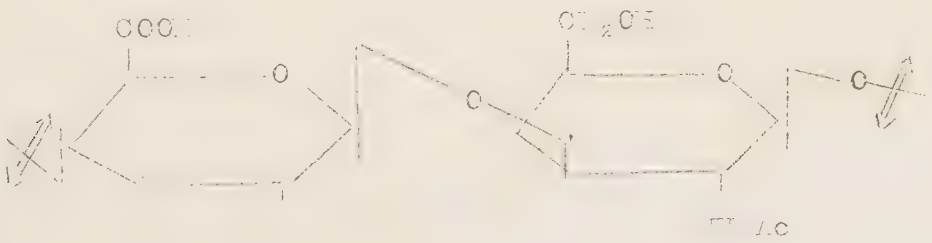


Figure 1

Cette hydrolyse, en scindant la macromolécule d'acide hyaluronique, provoque une diminution de la viscosité des solutions. Elle donne naissance à des fragments polysaccharidiques de poids moléculaire moléculaire plus petit et elle aboutit à l'acide hyalobiuronique, c'est-à-dire à l'unité disaccharidique constitutive du polymère. En fait, l'isolement des produits de dégradation est rendue difficile par l'existence de nombreuses réactions secondaires de transfert.

Le spectre d'action de l'enzyme dépend de son origine : en effet, la hyaluronidase des micro organismes n'hydrolyse que l'acide hyaluronique. Alors que celle des testicules agit non seulement sur cet acide, mais aussi sur les chondroitines-4-sulfate et chondroitine-6-sulfate.

On ne connait actuellement aucune hydrolase agissant sur le dermatane sulfate, le kerato sulfate et les héparines.

I - ACIDE HYALURONIQUE

Unité disaccharidique.

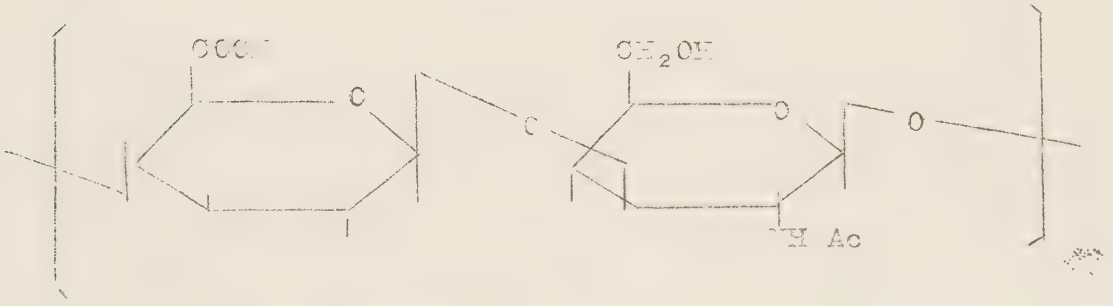


Figure 2

Ce disaccharide est obtenu par action prolongée de la hyaluronidase : c'est l'acide hyalobiuronique.

Sources

L'acide hyaluronique est un constituant de la substance fondamentale des tissus conjonctifs. On le rencontre notamment :

a) comme mucopolysaccharide acide unique dans :

- le liquide synovial
- l'humeur vitrée
- certaines tumeurs des poules
- les mésothéliomes et liposarcomes.

b) associé à d'autres types de mucopolysaccharides acides dans :

- le cordon ombilical
- les fibroblastes
- la peau
- l'aorte
- les valvules cardiaques.

Propriétés physiques.

Son poids moléculaire (5.10^4 à 8.10^6) varie selon la source et le procédé d'isolement. La longueur de la molécule a été évaluée à environ 1000 nm lorsqu'elle est sous forme de cordon mucoprotéique et entre 400 et 500 nm lorsqu'elle baigne dans le plasma. Cette longueur considérable serait due aux répulsions qui s'exercent entre les groupes carboxyliques régulièrement répartis dans la molécule.

Les solutions présentent une viscosité élevée.

II - CHONDROITINE - 4 - SULFATE (ou chondroitine sulfate A)

CHONDROITINE - - SULFATE (ou chondroitine sulfate C)

Unité disaccharidique.

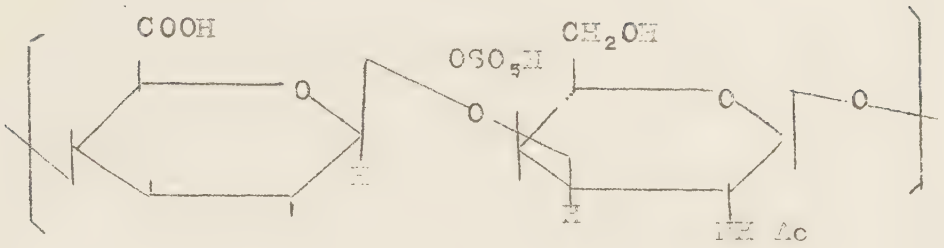


Figure 3 - Acide chondroitine-4-sulfurique

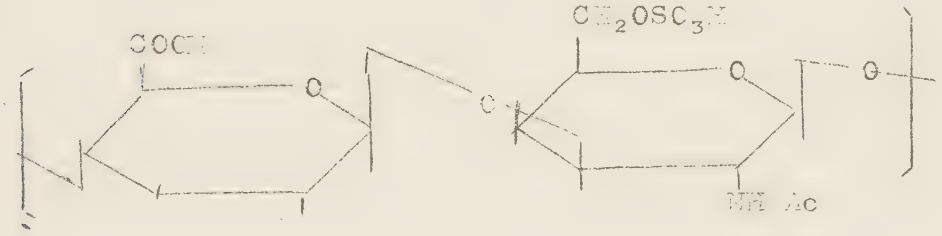


Figure 4 - Acide chondroitine-6-sulfurique

Sources.

Courant :

- cartilage et os

Accessoirement :

- cornée
- [illegible]
- cordon ombilical
- plasma
- valvules cardiaques.

Propriétés physiques.

Le poids moléculaire est compris entre 50 000 et 90 000 selon les tissus.

Pouvoir rotatoire :

- chondroitine-4-sulfate $(\alpha)D$ -28 à -32°
- chondroitine-6-sulfate $(\alpha)D$ -16 à -22°

Viscosité élevée cependant moindre que celle de l'acide hyaluronique.

Leur importante charge anionique permet la séparation des chondroitines sulfates de l'acide hyaluronique par électrophorèse.

L'étude des spectres en infra rouge (110) des chondroitines sulfates permet non seulement de préciser le type des liaisons glucosidiques unissant les différents sucres qui est de type liaison β, mais aussi de distinguer le chondroitine-4-sulfate du chondroitine-6-sulfate.

En effet, la nature du spectre dépend de la position du radical sulfate sur le N Acétyl galactosamine. Aussi avec le dermatane sulfate et le chondroitine-4-sulfate on trouve deux bandes à 928 cm^{-1} et 852 cm^{-1} qui sont caractéristiques de la position du SO_4^{--} sur le C_2 de la N Acétyl galactosamine. L'hydrolyse de ces deux mucopolysaccharides libère ce sucre qui conserve les deux bandes d'absorption précédentes.

Par contre, le chondroitine-6-sulfate possède une bande caractéristique à 820 cm^{-1} qui est identique à la bande observée avec le N Acétyl galactosamine-6-sulfate de synthèse ou avec le dérivé N Acétyl galactosamine obtenu par hydrolyse du chondroitine-6-sulfate.

Un autre moyen de distinguer ces deux polymères réside dans leur différence de comportement vis-à-vis de la réaction de MORGAN - ELSON. En effet, les polysaccharides contenant de la galactosamine substituée en C_4 donnent une coloration moins intense que celle de la galactosamine substi-

tituée en C_3.

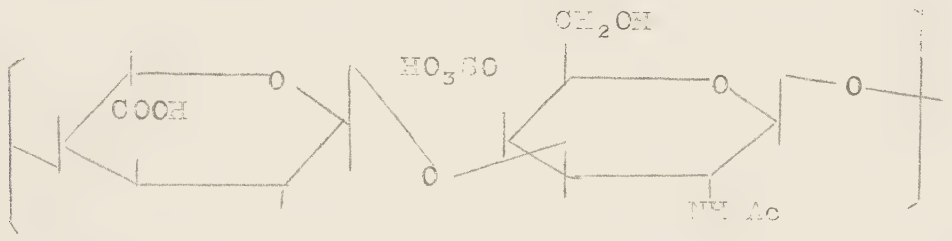
Récemment, on a isolé deux mucopolysaccharides de structure très voisine :

a) la chondroitine, ou le motif disaccharidique est identique à celui des chondroitines sulfates, mais qui ne présente pas de liaisons esters sulfates.

b) le chondroitine sulfate D, qui a été isolé du cartilage de requin. Le motif disaccharidique est également identique à celui des chondroitines sulfates, mais la teneur en radicaux sulfates y est plus importante.

III - <u>DERMATANE SULFATE</u> (ou chondroitine sulfate B)

Cette substance a comme unité de répétition le disaccharide suivant :



<u>Figure 5</u> -

Il se distingue facilement par le fait que la hyaluronidase de quelque origine qu'elle soit, reste sans action sur lui.

On le rencontre dans :

- les tendons
- les valvules cardiaques
- l'aorte
- le parenchyme pulmonaire
- la peau.

Sa teneur augmente avec l'age, et il possède une faible activité anticoagulante.

IV - KERATO SULFATE

Unité disaccharidique formée de D galactose et de D glucosamine contenant des groupements sulfatés.

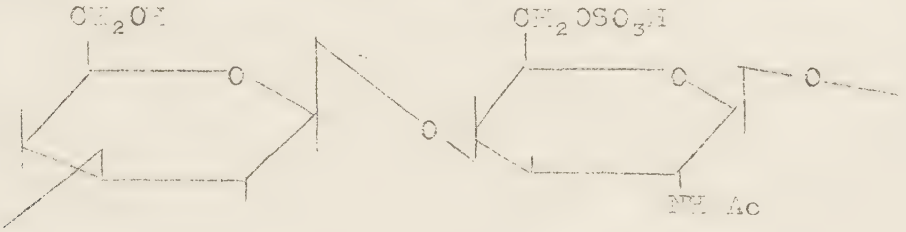


Figure 1

La structure exacte est encore mal élucidée, car son isolement à l'état pur est très laborieux.

Il semble qu'il existe des embranchements sur la chaine polymérique.

Il renfermerait également,à des taux très faibles :

- de l'acide sialique
- du galactosamine
- du fucose
- des méthyl-pentoses.

D'ailleurs, la composition du Kerato sulfate varie avec son origine, comme le montre le rapport :

$$\frac{\text{Sulfate}}{\text{Monosamine}}$$ compris entre 1,1 et 1,5

Le pouvoir rotatoire de + 5° à + 13°

La pourcentage d'acide sialique, de méthyl-pentoses, et d'acides aminés.

De plus, la liaison avec la protéine qui paraît différente de celle qui est réalisée avec les acides chondro-sulfuriques permet de distinguer deux types de Kerato sulfates :

- le Kerato sulfate I, présent dans la cornée,
- et le Kerato sulfate II, présent dans le cartilage et le nucleus pulposus,

qui réagissent différemment à la digestion, soit par la Pronase, soit par les Alcalis.

V - HEPARINE et HEPARINE SULFATE

Ces deux composés biologiques sont différents des autres mucopolysaccharides acides :

- par leur role fondamental d'anticoagulant
- par le fait que leur unité de répétition n'est plus un Di, mais un Tetra saccharide.
- par le fait que les liaisons osidiques réunissant les sucres sont du type α.

A - L'HEPARINE

se rencontre :

- dans le foie (d'ou son nom)
- dans la rate
- dans le poumon
- et à un taux plus faible dans de nombreux tissus en particulier dans le plasma ou sa très faible concentration en rend le dosage difficile. Elle y est synthétisée par les mastzellen, cellules spécialisées du tissu conjonctif, qui sont localisées dans les parois des vaisseaux.

La structure est encore discutée :

On y trouve de la D glucosamine et l'acide D glycuronique en proportion équimoléculaire. Les résidus aminés non acétylés y sont nombreux et expliqueraient sa stabilité à l'hydrolyse acide. La proportion du sulfate varie selonles auteurs et vraisemblablement selon les sources. La structure

de base la plus généralement admise est la suivante :

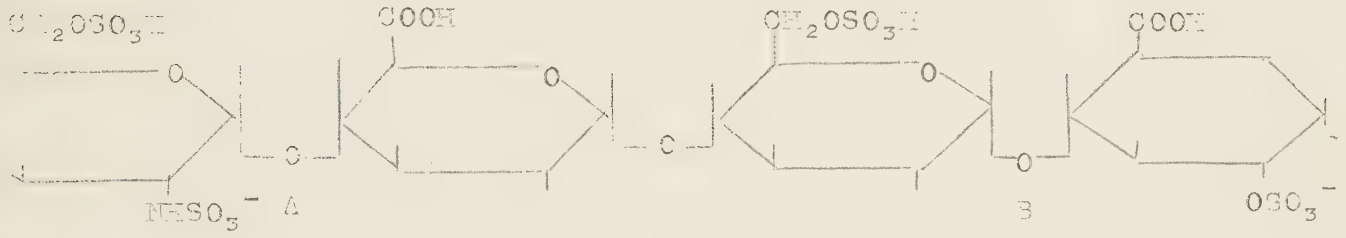


Figure 7

Les liaisons en A et B étant peut-etre non pas α 1-4 comme sur la figure, mais α 1-3. En outre il existe peut-etre des ramifications du type 1-6.

En fait, à l'heure actuelle, certains arguments font penser que la structure de base serait un saccharide constitué de huit sucres. De plus, l'héparine se disposerait dans l'espace selon une hélice avec un certain nombre de groupements sulfatés rattachés se disposant à l'extérieur de l'hélice.

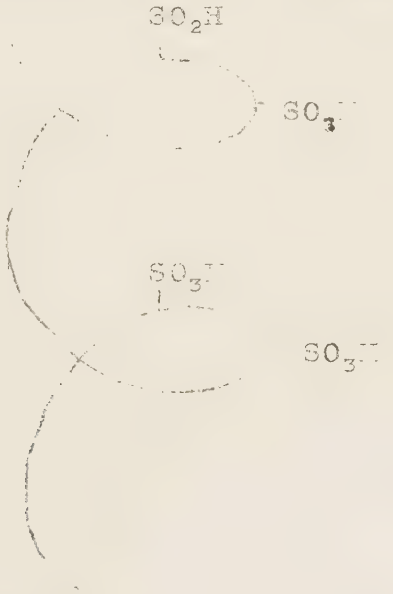


Figure 8

Son poids moléculaire est de l'ordre de 12 000.
Le pouvoir rotatoire $(\alpha)D$ eau = 48°.

D - L'HÉPARINE SULFATÉE

a un pouvoir rotatoire identique. Son poids moléculaire est plus faible, et une partie des fonctions aminées de l'hexosamine est acétylée.

L'héparine sulfatée se trouve dans de nombreux tissus, en particulier dans l'aorte et l'utérus.

METABOLISME DES MUCOPOLYSACCHARIDES ACIDES

I - BIOSYNTHESE DES MUCOPOLYSACCHARIDES (43-109-121-135)

La biosynthèse des macro-molécules polymérisées est toujours un problème délicat et de nombreuses questions restent encore à élucider dans le mécanisme de la formation des mucopolysaccharides acides. Toutes les études qui ont été entreprises tant in vitro qu'in vivo permettent d'affirmer que cette biosynthèse se fait in situ dans le tissu conjonctif lui-même. Les cellules mésenchymateuses de divers espèces synthétisent aussi bien l'acide hyaluronique que les chondroitines sulfatées. Le marquage isotopique par le glucose C^{14} a largement contribué à prouver ce fait . Les autoradiographies montrent que la radioactivité est localisée d'abord dans les cellules au niveau du cytoplasme, près du noyau, puis secondairement les composés marqués synthétisés se trouvaient expulsés dans la matrice extracellulaire.

Ce sont les travaux de LELOIR (80) qui nous ont fourni les premiers éléments précis sur la biosynthèse des mucopolysaccharides, en mettant en évidence l'existence d'un nucléotide-sucre dérivé à des sucres, et en montrant leur rôle dans la synthèse des di-saccharides et des polysaccharides. (5-63-111-134)

La biosynthèse des mucopolysaccharides acides pose une série de problèmes :

1° La formation des unités monomères :

- hexosamines
- acides uroniques.

2° La condensation osidique et la polymérisation.

3° Les mécanismes de la sulfatation et de la N-acétylation.

4° La liaison avec les protéines pour former des complexes (mucopolysaccharides-protéines)

1° La formation des unités monomères :

L'injection de glucose marqué par du carbone 14 a montré que le glucose constituait le précurseur à la fois des hexosamines et des acides uroniques.

a) La biogénèse des hexosamines :
(6-55-85-86-118-122-139)

Deux hexosamines sont présents dans les mucopolysaccharides acides, ou elles se trouvent en général sous forme de dérivés N acétylés : la N acétyl glucosamine (Glu N ac) et la N acétyl galactosamine (Gal N ac)

Il est établi que la chaine carbonée de la glucosamine provient directement de celle du glucose, sans rupture de l'enchainement des six carbones et que le groupement aminé dérivait d'un donneur qui est soit la glutamine, soit un sel d'ammonium.

Le schéma des réactions est indiqué dans le tableau suivant :

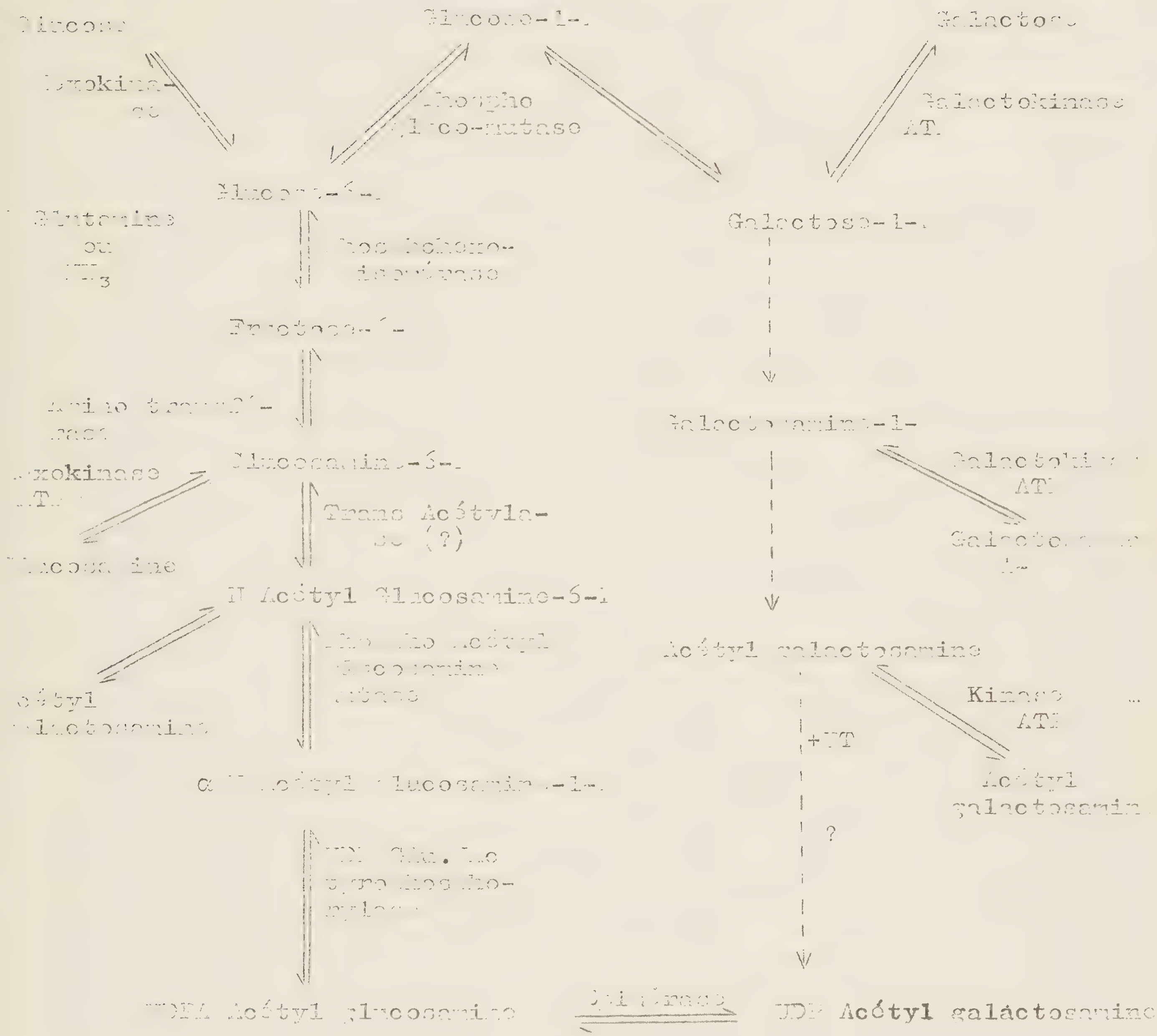

Galactose
Galactokinase
Galactose-1-
Trans Acétyla-
se (?)
N Acétyl Glucosamine-6-
Acétyl galactosamine
Kinase
+UT
?
UDP Acétyl galactosamine

Tableau n° 2 -

Le précurseur est, soit le glucose-6-phosphate, soit le fructose-6-phosphate, intermédiaires phosphorylés de la chaîne de dégradation d'EMBDEN MEYERHOF. La réaction d'amination se fait aux dépens de la glutamine et cette réaction pratiquement irréversible, donne naissance à la glucosamine-6-phosphate. Les destinées de la glucosamine-6-phosphate sont multiples. Le tableau n° 2 indique ici, les réactions : Elle peut

a) être déphosphorylée en glucosamine qui, ultérieurement, est acétylée en N acétyl glucosamine.

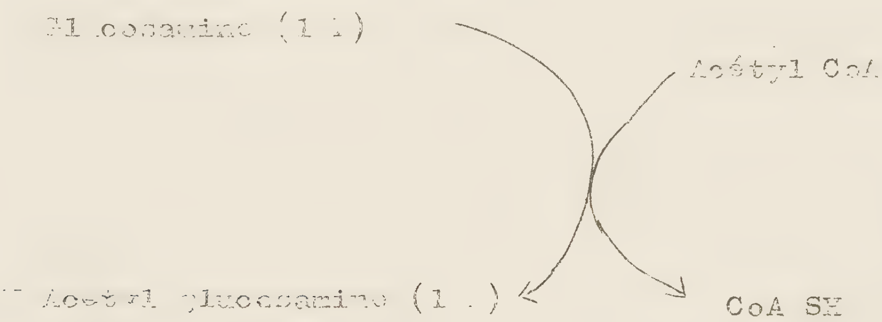


Figure 9

b) Sous l'influence d'une phosphomutase, elle isomérisée en glucosamine-1-phosphate, stade précurseur du dérivé activé : l'UDP glucosamine, en présence d'uridine triphosphate (UTP)

c) Enfin, elle peut être directement acétylée pour donner naissance à l'N acétyl glucosamine-6-phosphate, isomérisable lui-même en N acétyl glucosamine-1-phosphate, pouvant servir de précurseur à une forme directement activée (en présence d'UTP) : l'UDP-N-acétyl-glucosamine.

La galactosamine n'est pas formée directement. La réaction d'isomérisation qui inverse la position de l'oxhydryle du carbone-4-uridylique n'intervient que sur la forme activée du dérivé. C'est en effet, soit l'UDP galactosamine, soit l'UDP galactosamine N acétylé, qui est isomérisée en UDP galactosamine ou en UDP N acétyl galactosamine. (33)

Le mécanisme d'action de cette épimérase n'est pas encore parfaitement connu. Elle se localise dans la fraction surnageante cellulaire et nécessite la présence de DPN (le DPNH, au contraire, inhibe la réaction). Il semble qu'il s'agisse d'une réaction d'oxydation suivie d'une réduction transposant l'oxhydryle en position inversée sur le carbone 4.

b) La biogénèse des acides uroniques. (107-133-134)

Dans l'unité disaccharidique de la plupart des mucopolysaccharides acides, c'est l'acide D glycuronique qui est représentée, mais dans le chondroitine sulfate B (ou dermatane sulfate), on a récemment montré que l'unité uronique est un dérivé de la série L : l'acide L iduronique.

Le mécanisme de biogénèse des acides uroniques et leur activation est actuellement bien démontrée. Comme pour les hexosamines, c'est à partir de l'UDP glucose que l'acide est formé.

L'UDP glucose est directement oxydé par un deshydrogénase à DPN. Deux molécules de DPN intervenant successivement, oxydent l'UDP glucose en acide UDP-glycuronique (vraisemblablement par l'intermédiaire d'un dérivé aldéhylique qui n'a pas été isolé). Cet UDP-glucose deshydrogénase a été identifié dans de nombreux tissus, en particulier dans le foie et dans le rein.

L'acide UDP glycuronique ainsi formé représente la forme directement active qui permettra l'intégration de l'acide uronique dans la structure di et poly-saccharidique.

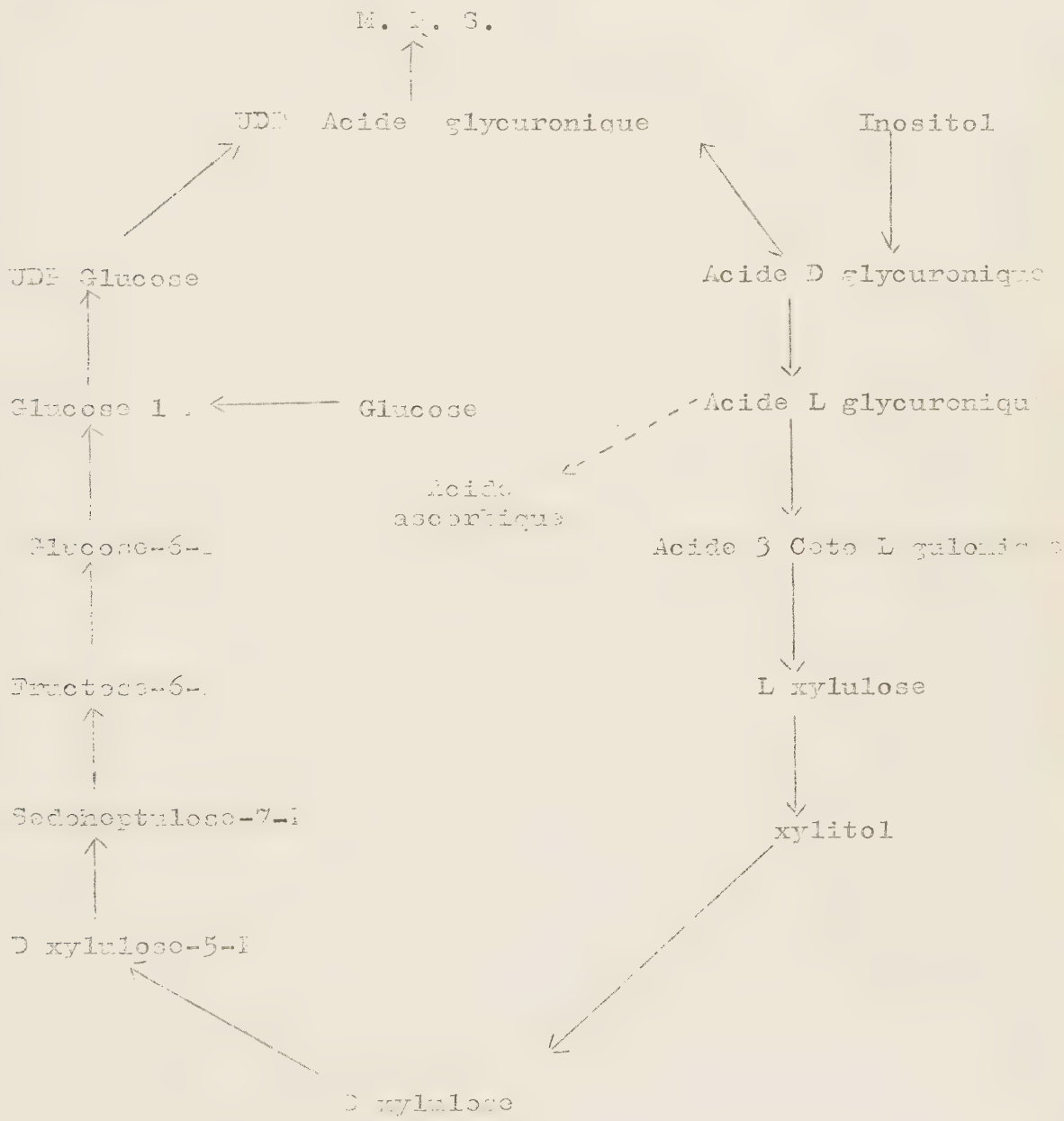


Figure 10

Une autre voie possible de formation démontrée de l'acide glycuronique utilise comme précurseur le myoinositol. En fait, cette réaction qui a été étudiée dans le foie de rat et qui est réalisée par un enzyme que l'on a isolé et qui contient une faible proportion de fer clive la chaine carbonnée du myoinositol et donne naissance soit à de l'acide D glycuronique, soit à de l'acide L glycuronique. Il n'est toutefois pas démontré que cette réaction, qui est irréversible, représente une voie normale de la biogénèse de l'acide glycuronique chez l'homme. (29)

Nous rappelerons également qu'il existe chez l'homme, des interférences entre le métabolisme de l'acide glycuronique et celui des pentoses (et plus spécialement du xylulose). Par ailleurs, la L gulonolactone, dérivé uronique formé à partir du glucose, est un des intermédiaires de la biogénèse de l'acide ascorbique : toutefois, elle n'intervient pas chez l'homme, incapable de réaliser cette synthèse à partir du glucose.

Les étapes de la biogénèse de l'acide L iduronique ont été établies par des expériences de marquage isotopique. L'acide L iduronique dérive également du glucose. L'UDP glycuronate subit une épimérisation du carbone 5. RODEN et DORFMAN, (120) en étudiant l'incorporation du glucose-6-C^{14} dans les mucopolysaccharides de la peau du rat ont retrouvé 43 % du carbone marqué dans la galactosamine, 43 % dans l'acide iduronique, au niveau du carbone-6- et 5 % au niveau du groupe acétyl.

Il faut donc deux enzymes différents conduisant

1 - de l'UDP glucose à l'UDP Acide glycuronique.

2 - de l'UDP Acide glycuronique à l'UDP Acide L iduronique.

Le NAD intervient aux deux stades. (38)

En effet, l'action de l'UDP Glucose Deshydrogénase fait intervenir deux NAD qui sont réduits en $NADH_2$ et l'UDP Acide glycuronique-5-épimérase, nécessite la présence de un NAD qui a ici un role catalytique.

En fait, deux voies seraient possibles :

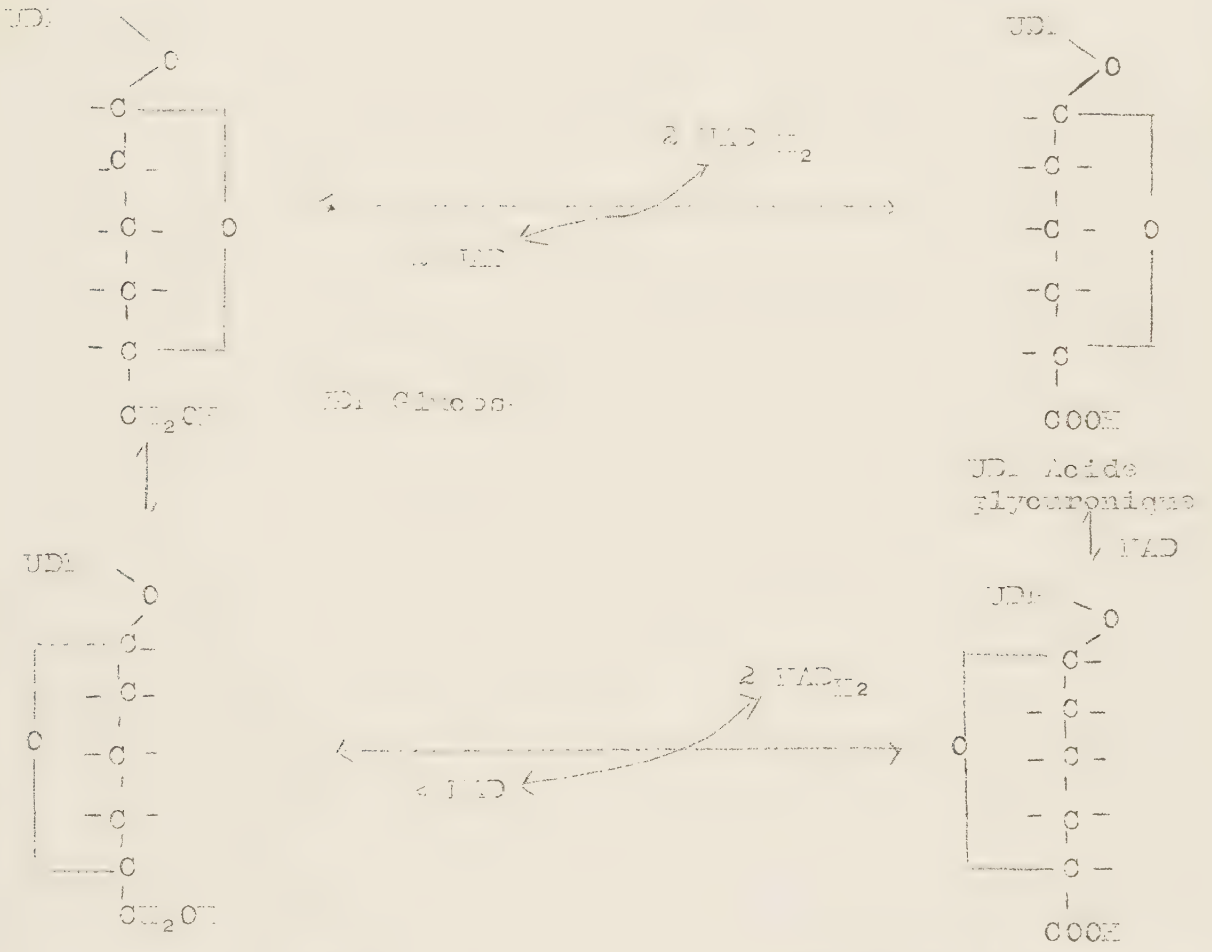


Figure 11

Donc, les réactions qui conduisent à la formation d'une part, des hexosamines, d'autre part, de l'acide uronique, constituants monomères de la structure polysaccharidique, donnent naissance non pas directement à ces dérivés, mais à des formes activées par l'association avec un nucléotide uridylique. (UDP glucosamine ou UDP galactosamine, acide UDP glycuronique).

2° La condensation osidique et la polymérisation

Le mécanisme de la condensation osidique est connu dans le cas de polysaccharides constitués par la répétition d'un motif monomère unique. La synthèse du glycogène ou la synthèse de la chitine met en jeu d'une part, un donneur d'unités glucosidiques monomères activées, activation réalisée par une condensation avec un nucléotide uridylique (UDP glucose ou UDP N acétyl glucosamine), et d'un accepteur qui est, soit une amylo dextrine, soit une chitodextrine. Les travaux sur la biogénèse des liaisons osidiques et sur la polymérisation des mucopolysaccharides se sont évidemment inspirés des résultats précédents. Mais le problème est ici beaucoup plus complexe, car l'unité se répète dans le polymère n'est plus un ose unique, mais une structure disaccharidique agencée selon une alternance régulière (NB)

Si nous prenons comme type de synthèse l'acide hyaluronique, deux possibilités sont à envisager.

1° Soit une synthèse directe, en un temps, dans laquelle les dérivés uridyliques se condensent d'une manière régulière et successive, pour former une chaine polyholosidique.

(NB) Ce problème rappelle celui de la biogénèse des protéines et on a essayé de savoir si l'enchainement alterné des unités monomères glucosidiques était dirigé par un facteur nucléique. En traitant des préparations activées par la Ribonucléase et la desixorubonucléase, on n'influence pas la biogénèse des mucopolysaccharides acides.

2° Soit une condensation d'unités disaccharidique formées dans un premier temps selon le schéma :

UDP GluNAc + UDP-GAl ⟵⟶ (GluNAc-GAl) UDP + UDP

qui dans un second temps se polymériserait selon :

2(GluNAc-GAl)UDP ⟵⟶ (GluNAc-GAl-GluNAc-GAl) UDP + UDP

Le premier mécanisme suggère qu'un seul enzyme fait alterner successivement les unités monosaccharidiques au cours de la condensation osidique alors que dans le second mécanisme, la formation d'un disaccharide UDP actif intermédiaire précède la polymérisation, donc met en jeu deux enzymes différents.

La seconde hypothèse est rendue vraisemblable par un travail de CIFONELLI et DORFMAN (1955) (25) qui ont isolé une faible quantité d'un tel disaccharide, mais n'ont pu en effectuer l'identification complète.

Plus récemment, JOURDIAN et Coll. (1961) (74) et KOBATA (1962) (77) ont isolé un dérivé uridylique d'un tri-saccharide.

Les données actuelles ne permettent donc pas un choix définitif entre ces deux mécanismes, car aucune preuve n'a été apportée qui indique que plusieurs enzymes participent à la polymérisation. Il n'est pas possible non plus, de vérifier la suggestion de MARKOVITZ et DORFMANN (1959) (83) qui expliquent l'alternance des unités monomères par une liaison en trois points avec un enzyme de condensation unique.

3° Les mécanismes de la sulfatation et de la N acétylation.

a) sulfatation

Ce sont les travaux d'ABRAMO et LIPMANN (1957) (1)

qui ont établi que la sulfatation des mucopolysaccharides acides se fait par un transfert de SO_4^{--}, à partir de la forme activée : 3' phospho adénosine, 5' phospho sulfate. (57-117-116)

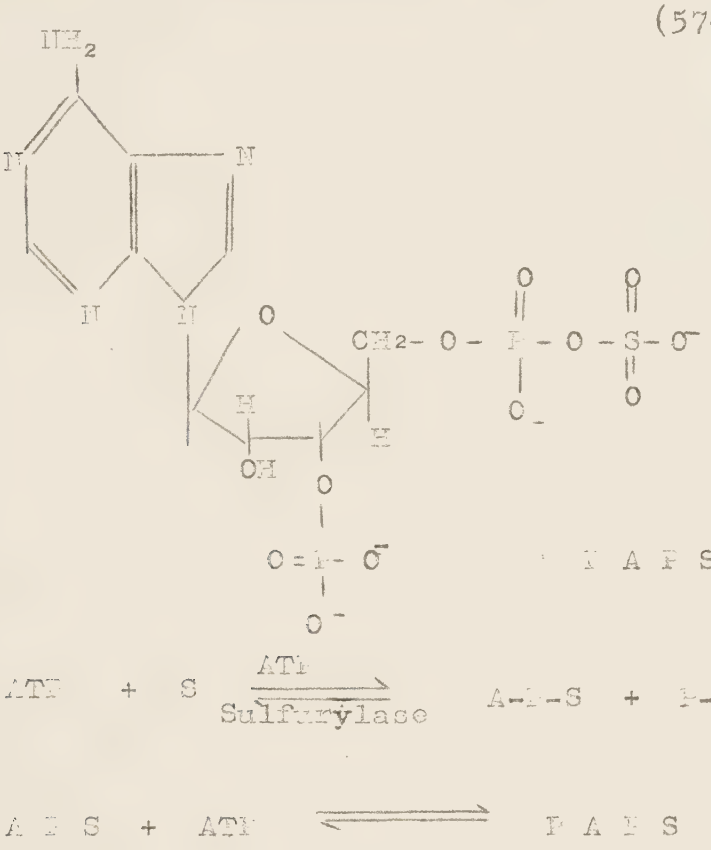


Figure 12

Toutefois, nous ne savons toujours pas si la sulfatation précède ou non la polymérisation. L'isolement d'un chondroitine sulfate par DAVIDSON et MEYER, (1954) (102) à faible teneur en soufre indiquerait que la polymérisation a d'abord lieu. Mais, en 1959, STROMINGER a isolé un nucléotide uridylique sulfaté, qui pourrait jouer le rôle d'un précurseur du mucopolysaccharide acide (138)

DORFMAN et Coll. (1964) (44) ont étudié la synthèse du chondroitine sulfate en utilisant des épyphyses d'embryons de poulets de trois jours : en présence d'ions Mg^{++}, l'homogénat incorpore l'UDP glycuronique et les ions sulfates,

et forme du chondroitine sulfate. La fraction particulaire obtenue par centrifugation à 100 000 n'utilise plus l'UD. glucosamine N acétyl, mais incorpore l'UD. galactosamine N acétylé en formant un polysaccharide, de haut poids moléculaire hydrolysable par l'hyaluronidase. Mais cette fraction particulaire ne fixe plus les deux sulfates. Par contre, le surnageant renferme également l'épimérase qui convertit l'UD. glucosamine N acétyl en UD. galactosamine N acétylé, en présence de Ca^{++}.

b) L'acétylation.

Les groupements acétyles fixés sur la fonction α-aminé des hexosamines (dérivés N acétylés) dérivent de radicaux acétyles actifs, (acétyl CoA). Donc, le mécanisme de la réaction acétylation est parfaitement établi. Cette acétylation a lieu directement dans l'étape de biosynthèse des homosaccharides et nous avons vu que la polymérisation se fait à partir de dérivés activés UDP-hexosamines déjà N acétylés, donc ici le problème de l'acétylation sur la chaine polymérisée ne se pose pas, la polymérisation se faisant sur des monomères déjà N acétylés.

4° La liaison avec les protéines.

Les mucopolysaccharides acides existent à l'état natif sous forme de complexes covalentiels avec des protéines. En 1939, MORGAN avait déjà isolé des cartilages un tel complexe avec le chondroitine sulfate.

MERRIDGE (1948) (112) attribue la teneur en azote anormalement élevée de mucopolysaccharides de diverses origines à la présence d'une protéine attachée à la molécule polysaccharidique : ceci explique la dénomination de glycoprotéines parfois donnée aux mucopolysaccharides.

Récemment, on a confirmé l'existence de ces combinaisons d'abord avec le chondroitine sulfate 4, puis avec le

chondroitine sulfate 6, enfin avec l'Héparine. Il est vraisemblable que le chondroitine sulfate B (dermatane sulfate) existe également sous cette forme, car, d'une part, son extraction des tissu nécessite, soit une protéolyse, soit l'action préalable des alcalis, et d'autre part, le dermatane sulfate extrait par digestion protéolytique contient toujours des acides aminés résiduels. La présence d'acides aminés dans l'héparine sulfate extrait de l'aorte humaine, ou du foie de la maladie de HURLER, indique que, à l'état natif, ces composés sont liées à des protéines.

Ce complexe hétéroprotéique est encore mal défini actuellement. Son étude est de première importance pour définir le rôle physiologique des mucopolysaccharides. Mais, comme nous le verrons, c'est peut-être dans le domaine de la pathologie qu'elle est susceptible de nous fournir les données les plus intéressantes.

La fraction mucopolysaccharidique est aisément dissociable du complexe par un traitement alcalin : la protéine a pu ainsi etre isolée et analysée. C'est ainsi que LOZAITYTE (111) a dissocié le dermatane sulfate de la protéine d'un poids moléculaire élevé (1.10^6) (11) qui lui est associée (septum nasal du boeuf) : la composition en acides aminés de la fraction protéique est la suivante :

Arg	1,03	Tyr	1,02	Leu	2,08
Lys	0,84	Try	0,76	Pro	1,69
His	0,92	Val	1,17	Asp	3,10
Thr	0,83	Gly	0,88	Glu	3,10
Cys	0,77	Ser	1,23	Met	6,18
I Leu	0,74	Ala	0,94	Hy Pro	0,05
Méthyl alanine	0,98				

L'absence d'hydroxyproline (comme SHATTON et SHUBERT (130) l'avaient déjà souligné) différencie cette protéine d'un collagène.

L'analyse des acides aminés de chondroitines sulfates-4 isolé après protéolyse fournit des indications sur la nature de la liaison protéine-sucre. La sérine est le principal acide aminé (2) et, comme les autres acides aminés sont dans un rapport molaire avec le chondroitine sulfate inférieur à 1, il est vraisemblable que la liaison avec la protéine est assurée par l'intermédiaire de la sérine. RODEN et Coll ont d'ailleurs pu dégrader le complexe mucopolysaccharidique-protéine, en fragments de faible poids moléculaire saccharide-acide aminé, dans lesquelles la sérine constitue le seul amino-acide.

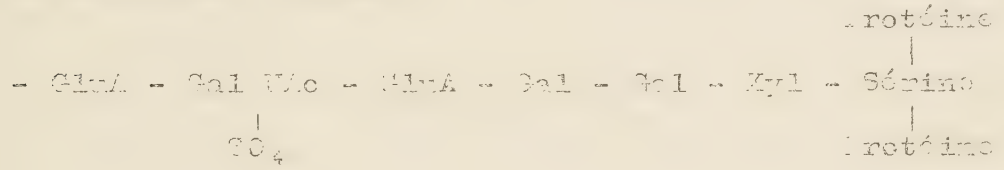
Actuellement, la liaison du polysaccharide avec l'oxydrile de la sérine est démontrée pour les chondroitines-sulfate A - B - C. Pour l'héparine et pour l'héparine mono-sulfate, il s'agirait d'une liaison glucosidique. Mais il n'est pas exclu, comme semble le démontrer les caractères de la cinétique de l'hydrolyse de ces liaisons, qu'il puisse exister des liaisons N glucosidiques qui serait engagées avec la fonction amide de l'asparagine des chaines polypeptidiques.

La sérine, au niveau de laquelle se fixerait la chaine polysaccharidique, est à l'intérieur d'une chaine polypeptidique et le polysaccharide représente un point de branchement de ramifications dans la structure macro-moléculaire du complexe mucopolysaccharide-protéines.

Par ailleurs, la présence constante de certains amino-acides dans les préparations de divers polysaccharides, généralement en proportion plus faible que la sérine (acide glutamique, acide aspartique, glycocolle, alanine et proline) suggère que ces amino-acides se situent au voisinage de la

liaison sérine-polysaccharide suivante qui caractérise le point de jonction de la chaine polysaccharidique et de la chaine polypeptidique a été proposé sur ces données expérimentales : acide glycuronique - galactosamine - acide glycuronique - galactose - galactose - xylose - sérine et chaine polypeptidique.

Récemment (1965) RODEN et ARMAND (119) ont isolé du chondroitine sulfate 4, de cartilage, un disaccharide 3 β D glycuronosyl - D galactose, localisé au niveau de la liaison saccharide-protéine du complexe mucoprotéique. Ces auteurs donnent de cette région de la molécule le schéma de structure suivant :



Cette structure serait également valable pour l'attache de l'héparine avec la protéine (RODEN et ARMAND) (146)

La chaine protéique sert de support à plusieurs molécules de mucopolysaccharides : (10-11-109) selon MATHEWS et LOTSPEICH (96) , la longue chaine polypeptidique (3700 Å) fixe 62 molécules de dermatane sulfate. Plus récemment, HARTRIDGE et Coll. ont montré qu'à une protéine, pouvant être associée plusieurs types de mucopolysaccharides (dermatane sulfate et kérato sulfate, dans le complexe qu'ils ont isolé). Cette observation de HARTRIDGE souligne une des difficultés de l'étude de la structure et du rôle des complexes (mucopolysaccharides acides-protéines), résidant dans la coexistence d'un tissu de mucopolysaccharides acides variés en fonction de l'âge (75) : ainsi, dans le cartilage du foetus, le chondroitine sulfate 4 prédomine , alors qu'il

disparait chez l'adulte et est remplacé par le kerato sulfate et le chondroitine sulfate 6.

Le complexe mucopolysaccharide-protéine est métabolisé dans le cartilage comme une seule unité.(22-60)
Les travaux de GROSS ont montré qu'en marquant à la fois le soufre du sulfate et la lysine, ces deux éléments étaient incorporés simultanément dans la portion mucopolysaccharidique et dans la portion protéique du complexe. Par ailleurs, aucune différence n'a pu etre mise en évidence dans le turnover des deux fractions, ce qui indique que ce complexe est métabolisé comme un tout.

Quant à la synthèse propre de la protéine, elle est évidemment régie par les lois générales de la biogénèse des protéines. C'est peut-etre d'ailleurs le controle génétique de cette synthèse qui expliquerait les troubles biochimiques des mucopolysaccharides dans certaines maladies héréditaires, et ce point sera discuté plus loin.

II - DEGRADATION DES MUCOPOLYSACCHARIDES (41-54)

Le problème de la dégradation par la hyaluronidase a déjà été évoqué plus haut (voir p. 7) . La hyaluronidase testiculaire agit sur la molécule d'acide hyaluronique et sur la molécule de chondroitine sulfate 4 et 6.

Cependant, chez les animaux supérieurs, on ne connait aucun enzyme capable de cliver les chaines de dermatane sulfate, de kerato sulfate, d'héparine ni d'héparine sulfate.

L'existence d'une disacétylase chez l'homme est très douteuse. On a invoqué un mécanisme qui ferait intervenir une isomérisation de la N Acétyl glucosamine-6-phosphate en fructose-6-phosphate avec libération d'ammoniaque et

et d'Acétate (Mécanisme de LELOIR).

Le problème d'une éventuelle désulfatation reste également posé. On a isolé chez certains mollusques des enzymes capables de libérer SO_4H_2 sans avoir pour autant une action chondroitinasique. Cependant, ces chondrosulfatases n'ont jamais été trouvé chez les organismes supérieurs. Pourtant, après injection de mucopolysaccharides marqués au ^{35}S, une très grande proportion du S des chondroitines sulfatés et de l'héparine sulfate se retrouve dans les urines sous forme de sulfate inorganique. MEYER pense que la désulfatation doit se produire au niveau même du lieu de synthèse de ces mucopolysaccharides et en tout cas, certainement avant qu'ils ne soient déversés dans la circulation.

ROLE DU COMPLEXE MUCOPROTEIQUE DANS LE TISSU CONJONCTIF (50)

Le rôle le plus facile à mettre en évidence est le <u>maintient de la rigidité et de l'élasticité tissulaire</u>, comme le démontre l'expérience classique de THOMAS (140) : en injectant de la papaïne au lapin, ses oreilles deviennent très rapidement flasques.

Les oreilles commencent en effet à se relacher quatre heures après l'injection, leur pointe se recourbant vers le bas. Puis elles deviennent de plus en plus flasques et inélastiques, atteignant la position horizontale. L'animal cependant ne présente aucune autre manifestation. Par la suite, les oreilles reprennent leur état initial, en trois ou quatre jours après l'injection.

La papaïne a rompu les liaisons peptidiques de la protéine, d'où libération des mucopolysaccharides, qui passent dans la circulation, puis secondairement dans les urines.(19)

Cette expérience illustre le rôle joué par le complexe (mucopolysaccharides acides - protéines) de la substance fondamentale du conjonctif, dans la cohésion entre les fibres du tissu conjonctif. Toutefois, d'autres fonctions ont été précisées, qui découlent du caractère polyanionique de ces structures polysaccharidiques.

Ce caractère polyanionique est dû :

- soit aux groupements carboxyliques des acides uroniques.
- soit aux groupements sulfates.
- soit aux deux à la fois.

Chacun d'eux retenant un cation : Na^+ surtout, mais aussi K^+ Mg^{++} ... l'ensemble formant un "countérion".

En outre, le complexe polyanionique est solvaté avec des molécules d'eau.

Ainsi se comprennent deux nouveaux roles que peuvent éventuellement jouer ces mucopolysaccharides acides :

1 - Maintient de la balance ionique du tissu.

2 - Immobilisation de molécules d'eau.

La multiplicité des types de molécules mucopolysaccharidiques prend alors un sens tout-à-fait clair. Chacune d'elles en effet amène un nombre variable de groupements anioniques et donc joue un role différent pour le maintient de la balance ionique et le controle de l'hydratation :

On peut alors schématiser ainsi divers mucopolysaccharides anioniques :

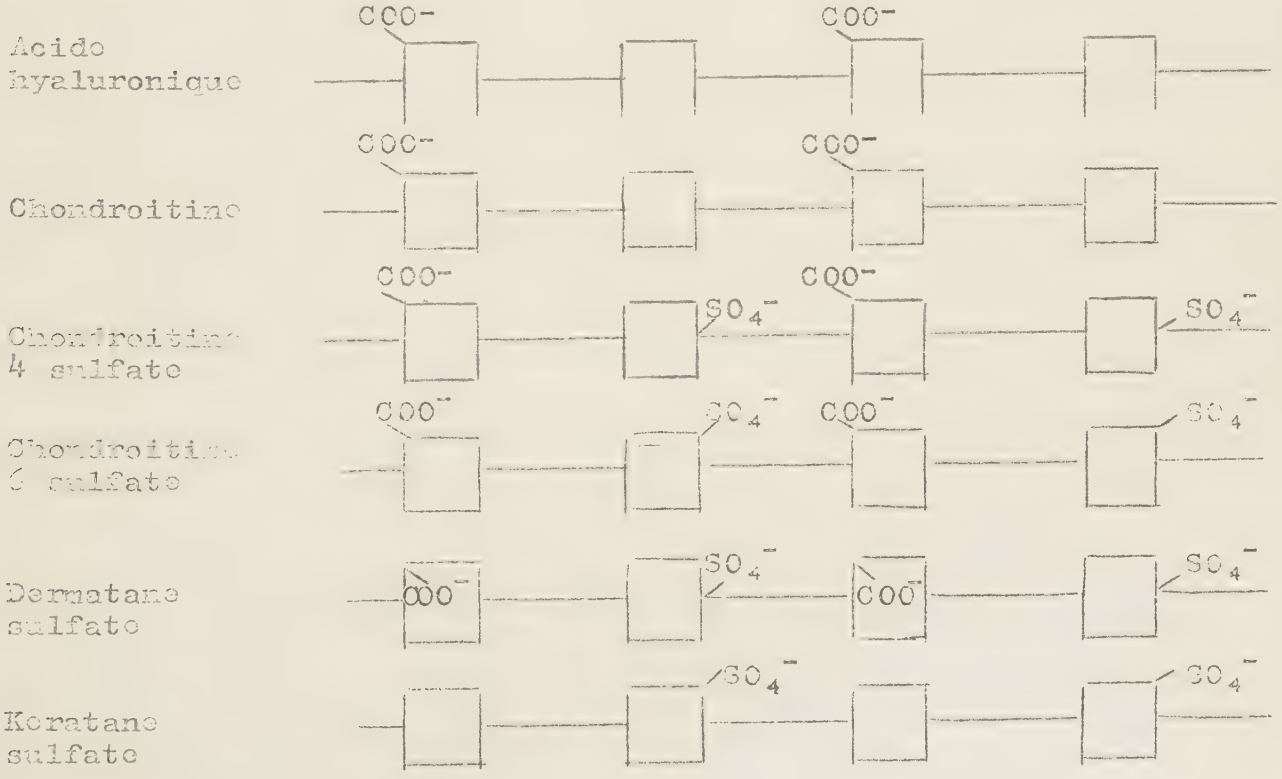


Figure 13

Cette spécificité qui se retrouve à la fois dans le type étudié. La distance des groupements anioniques suggère que chaque polymère joue le role d'un modèle ou d'un organisateur pour les éléments fibreux du tissu. En faveur de cette hypothèse, il faut signaler que l'aspect des fibres tissulaires dépend étroitement du type de mucopolysaccharide : elles sont irrégulières et grossières lorsque le dermatane sulfate prédomine et au contraire beaucoup plus fines et régulières quand ce polymère est absent de la matrice.

D'autres observations de médecine expérimentale montrent bien que le mucopolysaccharide doit toujours etre étudié dans son contexte protéique.

Par des injections répétées de papaine à un chien en croissance, la rupture des chaines protéiques du complexe entraine un syndrome polystrophiques, avec

- un retard de croissance endochondrale.
- une fermeture des zones de croissance épyphysaires,

le tout aboutissant à un nanisme.

Ces malformations provoquées évoquent celles que nous analyserons dans le chapitre "Pathologie" et plus spécialement la maladie exostosante qui se rencontre chez certains enfants et qui va de pair avec une excrétion augmentée de l'acide chondroitine-4-sulfurique.

A la résistance particulièrement élevée des animaux agés correspond un taux très bas de ce mucopolysaccharide dans le cartilage. Dans tous les cas, en effet, la papaine affecte plus intensément le cartilage où les acides chondroitines sulfuriques sont plus concentrés, ce qui s'explique parfaitement si l'on admet que la protéine occupe une position centrale avec un grand nombre de molécules de mucopolysaccharides qui sont détachées sous l'action de la papaine dès que certaines liaisons peptidiques sont rompues.

A l'heure actuelle, on peut résumer les roles physiologiques des mucopolysaccharides acides de la façon suivante ([illegible])

:

- Rigidité et élasticité du tissu conjonctif.
- Lien entre les fibres et les cellules du tissu.
- Maintien de la balance électrolytique et de l'hydratation.
- Lubrification des articulations et agents de résistance aux infections. Ces deux actions seraient dues à l'importante viscosité de l'acide hyaluronique en solution.
- Facteur anticoagulant et facteur clarifiant du sérum.
- Croissance des cheveux (kératane sulfate) (106)
- Calcification.

- Les mucopolysaccharides auraient également un role dans la synthèse des fibres orientées du collagène. (78)

La métachromasie qui s'observe dans la matrice organique juste avant la calcification indique que celle-ci est précédée par des modifications des chondroitines sulfates au niveau cellulaire. SOBEL suggère que le mécanisme de la calcification dépend de la configuration des fibres de collagène qui, elle-même, est en rapport avec les chondroitines sulfates.

HORMONES ET SYNTHESE DES MUCOPOLYSACCHARIDES ACIDES

De nombreux travaux ont été entrepris sur ce sujet. Nous n'entrerons pas ici dans le détail des faits, qui d'ailleurs restent souvent douteux voire contradictoires.

1) Hormones cortico surrenaliennes. (35-110-146)

Elles ont un role certain sur la biosynthèse. On note en effet après administration de cortisone une baisse importante de la synthèse qui porte à la fois -comme le marquage isotopique l'a démontré- sur l'incorporation du ^{14}C-glucose acétate et du $^{35}SO_4^-$ Sur le plan histologique, cette action se manifeste par un ralentissement important de la croissance des fibroblastes. Le mécanisme de cette action n'est pas élucidé, mais elle présente de nombreuses analogies avec cele des différents médicaments anti-inflammatoires : salicylate - phényl Butazone etc...

Bien que le mécanisme propre de chacune de ces substances puisse etre différent, elles entraineraient toutes une réduction de l'ATP disponible qui est bien sur, la source d'énergie utilisée pour la polymérisation du mucopolysaccharide.

Pour le sulfate, il y aurait à la fois baisse de la quantité disponible et baisse d'utilisation.

Enfin, le role éventuel des hormones cortico surrénales sur une augmentation du catabolisme ne repose sur aucune preuve.

2) Hormones sexuelles (35-115)

Elles auraient un effet inverse, augmentant la vitesse de la synthèse et ceci aussi bien pour les hormones males que femelles. Il y aurait en outre augmentation du degré d'hydratation du polymère. DAVIDSON et SMALL ont trouvé sous l'effet de la testostérone et des oestrogènes une augmentation du kératosulfate et une diminution du chondroitine-6-sulfate au niveau du nucleus pulposus. Par ailleurs, il y aurait au niveau de la peau augmentation du taux d'acide hyaluronique alors que le dermatane sulfate n'est pas modifié.

3) Gonadotropines.

Elles induiraient la dépolymérisation.

4) Parathormone

La parathormone agit sur l'os essentiellement au niveau des ostéoclastes qui détruisent la matrice par digestion enzymatique d'origine cellulaire. Il s'en suit une dépolymérisation de la substance organique fondamentale et notamment des mucopolysaccharides qui s'y rencontrent. Cette action va de pair avec une libération phospho-calcique. Cet effet a été démontré en suivant le taux de ^{35}S. En effet, [illegible] (109) après injection de ^{35}S à des rats suivie 24 heures après de parathormone, montre que le ^{35}S circulant est éliminé dans les urines est nettement plus important que chez les rats témoins ne recevant pas de parathormone. Il y a donc destruction de l'os ayant fixé le S et libération des mucopolysaccharides qui peuvent se redistribuer dans l'organisme ou être éliminés.

Pour certains auteurs, le composant de l'extrait glandulaire qui agit sur la constitution des mucopolysaccharides n'est peut-être pas le même que celui qui décalcifie l'os. Par contre, c'est le même qui réduit la résorption tubulaire

des phosphates et augmente leur filtration glomérulaire. Dans le cas où il existerait une action bien différente entre la libération des mucopolysaccharides et la décalcification, il se pourrait que l'hormone provoque une multiplication des cellules qui réalisent la synthèse des mucopolysaccharides.

En réalité, les observations semblent donc encore contradictoires.

5) Role de la vitamine C (78)

Dans la carence en acide ascorbique, la concentration en chondroitine sulfate diminue dans le cartilage, ce qui explique un blocage de la formation de la galactosamine.

ANTONOWICZ et CODICEK ont montré que la concentration en chondroitine sulfate diminue dans le cartilage, et la formation de galactosamine est ralentie. Ces auteurs localisent le blocage au niveau de l'UDP-4-épimérase.

CONCLUSION

L'étude du métabolisme normal des mucopolysaccharides acides reste un sujet d'actualité. Si la synthèse des éléments constitutifs du polymère est en général bien élucidée on ne connait que très peu de choses sur le mécanisme de polymérisation et surtout sur le contrôle qui permet d'obtenir une alternance régulière des unités monosaccharidiques 2 à 2.

De outre, les connaissances actuelles sur les mécanismes de dégradation sont très faibles.

Enfin, le métabolisme du complexe protéique et sa régulation restent très peu connus et les études entreprises à son sujet ne font que débuter.

De toute façon, les mucopolysaccharides ont un métabolisme actif. En effet, si dans certains tissus, telle la cornée, leur turnover est très lent, le plus souvent, ce turnover est rapide. Au niveau de la peau du rat par exemple, la 1/2 vie de l'acide hyaluronique est de l'ordre de 3 jours, celle du dermatane sulfate de l'ordre de 7 jours.

D'ailleurs le fait que les mucopolysaccharides du cartilage subissent au cours du vieillissement des modifications à la fois quantitatives et qualitatives indique clairement que ceux-ci sont métabolisés au meme titre que toutes les substances de l'organisme vivant.

ELIMINATION URINAIRE DES MUCOPOLYSACCHARIDES ACIDES

En 1954, KEREN (76) a le premier montré qu'il existe dans les urines normales des mucopolysaccharides qui se proviennent ni du tractus urinaire, ni de la prostate et qu'il n'a pu distinguer des chondroitines sulfates par les procédés analytiques, notamment par la chromatographie. Leur élimination est plus élevée chez l'homme (4,9 ± 1,3 mg par 24 heures) que chez la femme (3,0 ± 0,7 mg). DI FERRANTE et RICH (37-38) ont proposé une technique laborieuse d'isolement de ces mucopolysaccharides urinaires basée sur leur précipitation par le cétavlon (bromure de céthyl-triméthyl ammonium). Par cette méthode (perfectionnée et que nous exposerons plus loin), ils ont préparé une fraction mucopolysaccharides acides qu'il ont tenté d'identifier.

Ces mucopolysaccharides -qui ne sont pas complètement débarrassés de fragments protidiques- ont un pouvoir rotatoire lévogyre $(\alpha)_D = -17° 2$, sont hydrolysés par la hyaluronidase testiculaire et sont fortement métachromatiques au bleu de toluidine.

L'analyse fournit les proportions suivantes :

- Acides hexuroniques (acide glucuronique) 39,7 %
- Hexosamines (90 % de galactosamine + 9,5 % de glucosamine) 31,7 %
- Soufre 5,44 %
- Azote 3,91 %

Ces auteurs donnent comme valeurs normales 3 à 15 mg par 24 heures avec un chiffre légèrement plus élevé chez l'homme que chez la femme, et surtout chez l'enfant.

La plus grande partie (environ 80 %) est du chondroitine-4-sulfate associé à

- du dermatane sulfate environ 10 %
- de l'héparine sulfate environ 10 %

Plus récemment on a mis en évidence une très faible proportion d'un composant à moindre mobilité électrophorétique, vraisemblablement de l'acide hyaluronique.

En 1965, GERALD S. BERENSON et Coll., ont confirmé ces résultats et montré que les sujets normaux éliminaient également du chondroitine-6-sulfate et du kerato sulfate. (76)

TELLER et Coll. (27) ont exprimé l'excrétion par le rapport mucopolysaccharides/créatinine : ce rapport est de 20,0 $\pm$ 5,6 à un an et diminue progressivement pour atteindre 7,4 $\pm$ 3,5 à 14 ans.

En France, MAROTEAU, qui utilise la méthode de TELLER et Coll (27) (dérivée de celle de DI FERRANTE et RHOH), admet qu'une élimination supérieure à 10 mg par litre chez l'enfant, et supérieure à 5 mg par litre chez l'adulte doit être considérée comme pathologique.

En résumé, chez un sujet normal :

- le rein élimine des mucopolysaccharides acides, constitués surtout du chondroitine-4-sulfate, du dermatane sulfate et de l'héparine sulfate. Mais les autres mucopolysaccharides sont également présents à un très faible taux.
- l'élimination va en augmentant de la naissance à la puberté pour s'abaisser ensuite à l'âge adulte.

Toutefois, le taux des mucopolysaccharides urinaires reste extrêmement faible à l'état normal, ce qui nous indique que leur dégradation précède leur élimination pour la plus large part.

DEUXIEME PARTIE

TECHNIQUES D'ANALYSE DES MUCOPOLYSACCHARIDES

Les mucopolysaccharides acides sont constitués des éléments caractéristiques suivants :

- hexosamines N Acétylés
  - D glucosamine
  - D galactosamine.
- acides uroniques
  - Acide D glycuronique
  - Acide L iduronique.
- sucres neutres
  - D galactose
- groupements sulfates.

C'est l'élimination urinaire qui a surtout été étudiée. De nombreux auteurs se sont contentés de doser directement les mucopolysaccharides urinaires sans isolement préalable en déterminant :

- soit les hexosamines N Acétylés,
- soit les Acides uroniques.

BERRY et SPINANGER (13) ont même proposé un test simple, grossièrement quantitatif pour apprécier cette élimination urinaire dont on retrouve l'application dans de nombreuses publications.

Il consiste à évaporer sur un papier filtre un échantillon d'urines, puis à le plonger dans une solution de bleu de toluidine.

Le volume des échantillons déposé est généralement de 5.10 et 25 µl - et normalement aucune métachromasie n'est décelable - La présence d'une tache pourpre uniformément colorée correspondrait à 0,1 mg/ml d'acide chondroitine sulfurique.

Les résultats fournis par cette méthode ne sont pas constants. La participation des tests répétés dans des cas typiques de maladie de HURLER fournissent des résultats très variables chez un même malade, et des urines normales peuvent donner un test positif.

Ce test, qui ne présente pas de réelle spécificité vis-à-vis des mucopolysaccharides, ne peut donner que des indications très approximatives sur l'élimination urinaire.

Le dosage colorimétrique direct de certains constituants des mucopolysaccharides urinaires a été appliqué à l'exploration des troubles métaboliques de ces polyholosides.

Le tableau suivant résume ces réactions colorées.

	Réactif	Méthode de
Hexosamine libre	Réactif d'ERLICH Para-di-méthylbenzaldéhyde	ELSON-MORGAN
Hexosamine N-acétylé	Idem après chauffage en solution alcaline	MORGAN-ELSON
Hexoses (galactose)	A l'urée	
Acides uroniques	Carbazole	DISCHE

Tableau n° 3 -

Ces méthodes colorimétriques relativement simples, fournissent une valeur globale des divers constituants, mais ne distinguent pas entre les formes libres et les formes polymérisées ou liées à des mucoprotéines.

En particulier, le dosage des hexosamines par la méthode d'ELSON-MORGAN peut fournir des valeurs significativement augmentées lors d'une élimination fortement accrue des mucopolysaccharides. Une certaine confiance peut lui être accordée lorsqu'il s'agit de suivre l'évolution d'un syndrome dont le bilan biochimique a déjà été établi par des méthodes plus précises et plus spécifiques. Mais leur valeur diagnostique est insuffisante.

Seules, les techniques qui réalisent une séparation préalable de la fraction mucopolysaccharide urinaire (ou tissulaire) ont une réelle valeur et devront être utilisées dans l'étude des mucopolysaccharides.

Ces techniques sont laborieuses et comprennent les temps suivants que nous discuterons successivement :

1 - Digestion de la partie protéique.
2 - Extraction.
3 - Séparation des différents constituants.
4 - Identification et dosage.

I - DIGESTION DE LA PARTIE PROTEIQUE

L'isolement et la séparation des mucopolysaccharides nécessite d'abord la rupture des complexes qu'ils contractent avec des protéines, sous la forme de mucoprotéines.

Cette élimination de la fraction protéique est réalisée :

- soit par hydrolyse chimique,
- soit par hydrolyse enzymatique.

1 - Hydrolyse chimique

La préparation est traitée par de la soude 1 N à température ambiante. En milieu alcalin en effet, les liaisons oxydiques ne sont pas hydrolysées. Le rendement est très bon, mais il faut plusieurs jours pour éliminer complètement la protéine. (99-29)

2 - Hydrolyse enzymatique

Cette méthode, moins brutale, est généralement préférée, car elle élimine les protéines d'une part, en solubilisant les mucopolysaccharides (insolubles par exemple dans les tissus) et d'autre part, elle ne modifie pas la structure polyholosidique.

On peut utiliser :

a) une association de pepsine et trypsine. Cette hydrolyse, réalisée à pH acide risque d'éliminer les groupements sulfates des mucopolysaccharides et vont de détruire les liaisons oxydiques.

b) un traitement par des extraits pancréatiques à 40°C en présence de toluène (53)

c) on peut utiliser la papaïne purifiée. C'est encore l'inconvénient d'être thermostable et la digestion est généralement réalisée à 65°C. Elle est favorisée par l'addition d'EDTA (qui capte les métaux) et de cystéine qui protège l'enzyme. Cette hydrolyse dissout totalement en quelques heures un tissu aussi résistant que le cartilage.

II - EXTRACTION :

Après digestion de la protéine, les mucopolysaccharides doivent être isolés du milieu et débarassés des autres constituants.

- soit par une dialyse qui élimine les sels, les amino-acides ou peptides de la digestion protéique et les autres molécules de faible dimension et retient les macromolécules polysaccharidiques. Toutefois, cette technique séduisante par sa simplicité entraine une perte des mucopolysaccharides pouvant aller jusqu'à 15 % dans le cas de l'urine.

MUIR (110) a utilisé la technique proposée par CALLANAN et Coll (20) qui diminue la perméabilité des membranes de collophane et minimise les pertes au cours de la dialyse (chauffage préalable à 90°C pendant 24 heures).

- soit par insolubilisation en milieu éthanolique.

MEYER précipita les mucopolysaccharides de leurs solutions en présence de sels, en enrichissant la solution en alcool. Ainsi K. MEYER, dès 1956 (103) réussit à séparer les trois chondroitines sulfates du tissu conjonctif.

M...S. qui précipite	Concentration en alcool dans un tampon acétate de calcium
Dermatane sulfate	13 à 25 %
Chondroitine-4-sulfate	30 à 40 %
Chondroitine-6-sulfate	40 à 50 %

Tableau 4

- soit par formation de complexes insolubles avec des ammoniums quaternaires.

C'est actuellement la méthode la plus employée. Elle dérive des premiers travaux de JACQUES (70) (1949) et les conditions de précipitation du complexe et de sa solubilisation ont été précisées par SCOTT (129) . Nous résumerons ici les principales caractéristiques de ces complexes Mucopolysaccharides - ammonium quaternaire.

Précipitation des mucopolysaccharides par les composés ammoniums quaternaires.

Les ammonium quaternaires forment des complexes avec toutes les macromolécules polyanioniques et plus particulièrement avec les mucopolysaccharides acides. On peut ainsi combiner le kérato sulfate (molécule électriquement neutre), en présence de borate et en milieu alcalin.

Les composés ammoniums les plus utilisés sont :

- le bromure de cétyl triméthyl ammonium,
- le chlorure de cétyl triméthyl ammonium,
- et le chlorure de cétyl pyridinium (C.P.C.).

Les cétyl triméthyle ammonium présentent deux avantages :

- leur stabilité
- et surtout ils n'absorbent pas en ultra-violet, ce qui permet de controler l'absence dans les préparations de protéines et d'acides nucléiques.

Solubilité du complexe muco polysaccharides-ammonium quaternaire en fonction de la concentration saline.

La solubilité du complexe dépend de la concentration saline. Lorsqu'on remplace en solution, le complexe se solubilise progressivement à partir d'une concentration "seuil".

Figure 14

La concentration à laquelle le complexe se solubilise définit la "concentration saline critique" ou "CSC". La concentration saline critique est caractéristique pour chaque mucopolysaccharide et dépend :

- de la nature des charges anioniques ($-COO^-$ ou $-SO_3^-$)
- du nombre de charges anioniques par unité disaccharidique. Les mucopolysaccharides à 2 charges ont une "CSC" plus basse.
- pour une densité de charges anioniques identiques, la "CSC" est d'autant plus faible que le poids moléculaire est plus élevé.
- enfin, la "CSC" dépend de la nature de l'ammonium quaternaire.

Solubilité du complexe en fonction de la température.

La solubilité des complexes mucopolysaccharides - ammonium quaternaires est très sensible à la température : à température ordinaire tous les complexes à cétyl-triméthyl-ammonium et de cétyl-pyridinium sont insolubles, mais à partir d'une

température déterminée, la solubilité devient très vite variable. Le point caractéristique dans la courbe solubilité / température dépend :

- de la longueur de la chaine paraffinique.
- de la nature du polyanion.
- de la concentration saline du milieu.
- de la présence de solvants organiques miscibles dans l'eau : l'alcool et l'acétone diminuent la température de ce point de rupture.

Pour précipiter les mucopolysaccharides de l'urine, on ajoute donc une solution d'ammonium quaternaire et laisse reposer au froid pendant plusieurs heures (48 heures en général). Le complexe formé précipite et est recueilli par centrifugation. Un trop large excès d'ammonium quaternaire doit etre évité, car il entraine la formation d'une suspension colloidale, impossible à centrifuger quantitativement.

III - FRACTIONNEMENT DES MUCOPOLYSACCHARIDES

Le fractionnement des mucopolysaccharides d'un mélange purifié repose sur le caractère polyanionique des polymères. La séparation est en oeuvre :

- soit la solubilité des complexes avec les composés ammonium quaternaires.
- soit les propriétés anioniques des mucopolysaccharides libres.

- FRACTIONNEMENT PAR LES AMMONIUM QUATERNAIRES :

Il repose sur les caractères de solubilité des complexes mucopolysaccharides-ammonium quaternaires étudiés

[illegible] : en modifiant la concentration saline du milieu, à des températures déterminées, on peut séparer les complexes.

Exemple :

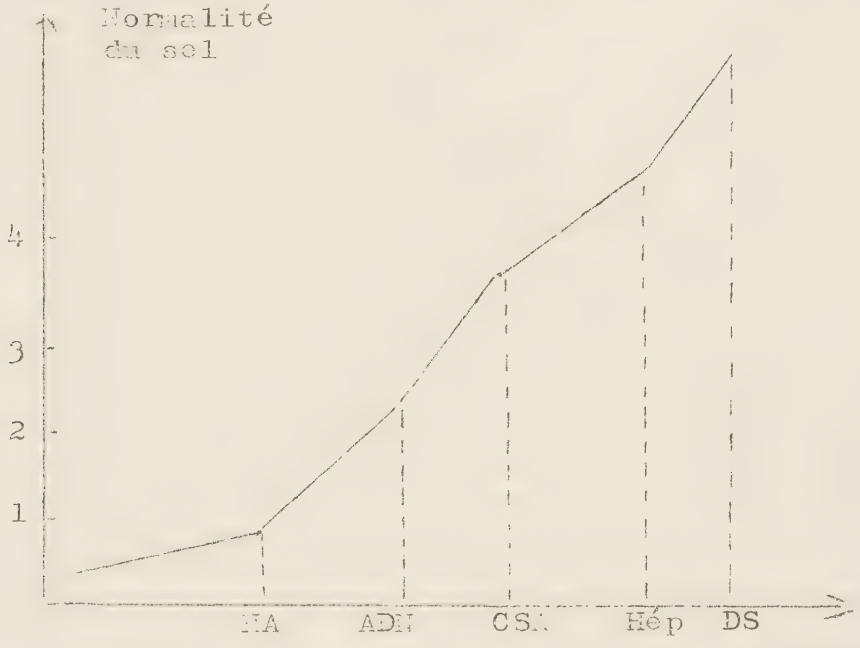


Figure 15

AH Acide hyaluronique
ADN Acide désoxyribonucléique
CSC Acide chondroïtine-4-sulfate (ou C)
Hép Héparine
DS Dermatane sulfate.

1 - Précipitation fractionnée :

On peut ainsi réaliser une précipitation fractionnée :

- à la solution contenant les mucopolysaccharides à séparer, on ajoute successivement :
  - un sel (NaCl ou KCl) à une concentration supérieure aux "CSC" de tous les mucopolysaccharides à séparer.
  - le sel d'ammonium quaternaire en léger excès (p. ex. : 0,5 ml de C.C pour 1).
  - enfin, de l'eau, contenant ou non du sel constamment.

A chaque fois qu'un précipité apparait, on le filtre. La température est maintenue suffisamment élevée (30° C environ), pour rendre plus sélective la précipitation.

2 - Chromatographie :

De nombreuses méthodes de séparation utilisent des techniques de chromatographie soit sur colonne, soit sur un support plan (papier, acétate de cellulose, couche mince, etc...) En réalité, ces séparations s'inspirent des méthodes chromatographiques, mais n'en appliquent pas les principes théoriques. Il s'avit de séparation par solubilisation fractionnée des complexes mucopolysaccharides-ammonium quaternaires.

a) Chromatographie sur colonne :

La nature de la colonne importe peu. Le support est lavé par une solution de C.C, puis on ajoute la solution de mucopolysaccharides à séparer et enfin on lave la colonne avec le sel d'ammonium quaternaire pour assurer une précipitation des mucopolysaccharides. L'élution est réalisée par un sel (chlorure de magnésium ou chlorure de sodium) soit avec un gradient de concentration, soit plutot par des étapes successives de concentrations déterminées.

La température de la colonne doit rester suffisamment élevée pour favoriser la dissolution du complexe. Cette méthode ne sépare pas complètement les différents constituants mucopolysaccharidiques. On peut cependant isoler trois groupes distincts. Ainsi, avec des concentrations croissantes en chlorure de magnésium, on a isolé successivement :

1 - le kérato sulfate qui s'élue avant tout passage de sel.
2 - l'acide hyaluronique et la chondroitine.
3 - les chondroitines sulfates, le dermatane sulfate, et l'héparine qui passe avec la fin des chondroitines sulfatées.

Un fractionnement plus complet met en oeuvre, d'une part, la sélectivité des hydrolases vis-à-vis de certains mucopolysaccharides, et d'autre part, la séparation électrophorétique.

Les différentes techniques décrites ne se différencient que par le type du support de la colonne.

Dans les cas les plus simples ne reposant que sur les caractères de solubilité des complexes ammoniums, on emploie un support inerte. Ainsi, ANTONOPOULOS et Coll utilisent des supports de cellulose Whatman. Soit, avec des colonnes de dimensions habituelles (30 x 1,2 cm) (4), soit avec des micro colonnes d'un diamètre inférieur à 3 mm (3).

Les autres types de colonne utilisent à la fois cette technique de solubilité des complexes dans des sels de concentration variable à la technique habituelle d'échanges anioniques. (ECTEOLA - DOWEX) ou de filtration sur Sephadex.

a) Colonne <u>ECTEOLA</u>

- N. RINGERTZ et P. REICHARD (114) séparent ainsi avec le chlorure de sodium comme éluat.
  - l'acide hyaluronique
  - les chondroitines sulfates
  - et l'héparine dont ils isolent plusieurs fractions qui diffèrent par leur activité anti-coagulante.
- N. GRAILING et Coll (59)
- [illegible] (9)

b) Colonne <u>DOWEX 1</u> (200 à 400 mesh)

- DAVIDSON E. et MEYER K. (108) ont pu ainsi isoler pour la première fois la chondroitine en 1954.
- SCHILLER - SLOVER et DORFMAN (131).

γ) Colonnes Sephadex G - 25.

- surtout étudiées par H. SCHMIDT et Coll. (127) (128) qui ont pu en 1964, séparer ainsi le dermatane sulfate des chondroitines-4 et 6-sulfates.

Il ne semble pas que l'une de ces techniques soit supérieure et en fait, les résultats obtenus par les différents auteurs sont assez semblables.

b) Chromatographie sur papier.

Elles n'apportent pas de résultats très intéressants pour la séparation des différents mucopolysaccharides (7-23-94)

Récemment, une méthode, basée sur les mêmes principes que ceux décrits ci-dessus pour le fractionnement des complexes mucopolysaccharides-ammoniums quaternaires, a été décrite par C.W. CASTOR et E.L. DORSTEWITZ. En partant d'échantillons de 5 à 10 µl contenant 20 à 40 µg de mucopolysaccharides, les auteurs parviennent à séparer l'acide hyaluronique, l'héparine, l'héparitine sulfate et les chondroitines-4 et 6-sulfates qu'ils pouvaient distinguer du dermatane sulfate (25).

c) Chromatographie sur couche mince.

Tout récemment, la chromatographie sur couche mince fut utilisée :

- par [illegible] et Coll (14) qui, avec des plaques de cellulose et de Sephadex purent distinguer le dermatane sulfate des autres chondroitines sulfates.

- et surtout par DODGSON - LLOYD et WUSTEMAN (98) qui sont parvenus à identifier tous les mucopolysaccharides sur des plaques de silice imprégnées de "C C". Mais, cette méthode de séparation n'est pas quantitative. Les réactions

permettant l'identification des différents polymères sont décrites plus loin (voir [illegible])

[illegible] - ÉLECTROPHORÈSE

La séparation par électrophorèse résulte du caractère polyanionique des molécules. Cependant, les charges négatives des différents constituants ne permettent pas de toutes les séparer.

En général, on obtient quatre zones distinctes :

1 - Acide hyaluronique et chondroïtine.
2 - Chondroïtine-4 et 6-sulfates, et dermatane sulfate.
3 - Héparine.
4 - Héparine sulfate.

Les différentes méthodes se distinguent par :
(47-55-95-113-81-126-142)

- Le support.
- Le pH de la solution.

En 1961, MATHEWS a montré que le pK des chondroïtine-4 et 6-sulfates était distinct du pK du dermatane sulfate. Ils réussirent à les séparer par électrophorèse en solution dans un tampon pyridine-acide formique, pH 3,0 (95).

Récemment, SAUNDERS et THOMSON ont proposé une méthode où le colorant et les mucopolysaccharides migrent

en sens inverse et se précipitent en se rencontrant. Cette méthode qui peut se faire sur des échantillons de l'ordre de 0,3 mg de mucopolysaccharides ne permet cependant pas de différencier les chondroïtines sulfates du dermatane sulfate.

IV - IDENTIFICATION ET DOSAGE

L'identification des mucopolysaccharides est réalisée par certaines réactions colorées spécifiques et par leur différence de stabilité vis-à-vis de certaines enzymes.

On peut également compléter l'étude de leur identification par la détermination du pouvoir rotatoire et surtout de leur spectre infrarouge.

Nous donnons ici, à titre d'exemple, les moyens utilisés par DOGSON et Coll. (42) dans un travail récent pour identifier les différents constituants après séparation par électrophorèse sur acétate de cellulose : voir tableau n° 5.

La réaction métachromatique était obtenue ici par une solution saturée de bleu de toluidine ou d'acétate dans un mélange acétone-éthanol - eau (1 : 1 : 1, v/v). Par cette méthode, les auteurs ont réussi à distinguer les différents mucopolysaccharides d'un mélange en associant plusieurs chromatographies successives.

Traitement	H.A.	K.S.	C-4-S	C-6-S	D.S.	H.S.	Hep.
Orcinol - acide sulfurique	gris pourpre	rose	gris pourpre	gris pourpre	gris pourpre	jaune -brun	jaune -brun
Acide nitreux - indole	-	-	-	-	-	orange	orange
Digestion hyaluronidasique puis							
-Elson-Morgan	pourpre	-	-	pourpre	-	-	-
-Naphto resorcinol	brun	-	rose	brun	-	-	-
(avec chauffage plus poussé)	gris	-	gris	gris	-	-	-
Digestion hyaluronidasique et traitement à l'acide nitreux puis							
-R.Metachromatique		faiblement positive			fortement positive		
-Indole						orange	orange

Tableau 5 - Réactions colorées des mucopolysaccharides sur couche mince (gel de silice)

Après avoir séparé les différents constituants polyosidiques, on effectue sur chaque fraction un dosage d'un des fils caractéristiques. Le plus souvent, on se contente de doser sur chaque échantillon : les hexosamines par la méthode d'ELSON-MORGAN, les acides uroniques par la méthode de DISCHE et éventuellement, le galactose par la réaction à l'anthrone.

A - DETERMINATION DES HEXOSAMINES

Principe

La méthode d'ELSO -MORGAN (52) repose sur la formation d'un complexe coloré avec le réactif d'EHRLICH après traitement du sucre aminé par l'acétyl acétone.

La technique originale décrite en 1933 a été plusieurs fois modifiée de façon à augmenter la sensibilité et surtout à réduire les interférences des autres sucres et des produits de dégradation des protéines.

Réactifs.

- Acétyl acétone. 1 ml dans 25 cc de CO_3Na_2 1 M.

Le produit commercial doit être redistillé avant l'emploi et la dilution dans le carbonate de sodium est faite au moment du dosage.

- Réactif d'EHRLICH.

1,6 g de para diméthyl amino benzaldéhyde purifié sont dissous dans 30 ml d'acide chlorhydrique concentré (HCl) et 30 ml d'éthanol 95 °. Ce réactif est stable s'il est conservé au froid.

Dosage

1 - Prise d'essai 250 µl (contenant 0 à 30 ug de sucre aminé).
- Acétyl acétone dans le carbonate de sodium : 500 ul.

2 - Agitation
puis bain marie bouillant 20 minutes.

3 - Après refroidissement, on ajoute successivement
- Ethanol 95 % 1,5 ml
- Réactif d'EHRLICH 0,25 ml.

4 - Bain marie - tubes bouchés :
10 minutes à 70° C.

5 - Lecture à 535 mu au spectrophotomètre en cuve de 1 cm.

La solution étalon est préparée par dissolution du chlorhydrate de glucosamine dans l'eau saturée d'acide benzoique et la courbe est établie entre 0 et 25 ug.

Discussion (16-69)

La technique d'ELSON-MORGAN modifiée permet de déterminer des concentrations de l'ordre de 10 ug de glucosamine. Les réactions sont complexes et il est vraisemblable que plusieurs chromogènes se forment. Normalement, la coloration rouge reste stable environ une heure. Le coefficient d'extinction parait etre identique pour la glucosamine et la galactosamine. Les sucres non aminés et les acides aminés ne semblent pas modifier la coloration s'ils sont présents séparément, mais s'ils existent ensembles dans la solution, la coloration est augmentée.

<u>Application aux mucopolysaccharides.</u> (3)

Nous prendrons ici le cas d'une séparation des mucopolysaccharides sur colonne avec élution par des concentrations croissantes de Cl_2Mg.

Il faut, dans un premier temps, se débarrasser du Cl_2Mg qui gêne la coloration formée.

On place donc dans un tube à centrifuger :
- 0,5 ml de la solution à doser.
- 0,15 ml de "CPC" à 1 %.
- 0,75 ml d'eau.

Puis après avoir laissé reposer à la température du laboratoire environ 30 minutes, on centrifuge 20 minutes sans refroidir.

Le culot est repris par 0,5 ml d'acide chlorhydrique 6 N. Cette opération n'est en fait pas nécessaire pour les deux premières fractions, car elles n'ont pas de Cl_2Mg. Ces deux premières fractions, sont directement traitées par l'acide chlorhydrique 6 N :

0,500 ml de prise d'essai.
0,500 ml de HCl 6 N.

Tous les tubes sont alors laissés au moins huit heures à 100° C.

On évapore et ajoute :
0,25 ml d'eau.
0,50 ml d'acétylacétone.

Enfin, le dosage est continué comme précédemment.

Dosage des acides uroniques. (20-40)

Principe.

La méthode utilisée pour la détermination des acides uroniques contenus dans les mucopolysaccharides est presque toujours celle de DISCHE.

Le principe repose sur la réaction colorée déterminée par les mucopolysaccharides quand ils sont chauffés en présence d'acide sulfurique concentré avec une solution de carbazole.

Réactifs.

1 - Solution de carbazole à 125 mg % dans l'éthanol absolu (la solution est stable à 4° C et à l'obscurité pendant au moins 3 mois).
2 - Borate de sodium - 10 H_2O : 0,025 M dans SO_4H_2 Merck.
3 - Acide glycuronique : solution étalon à 40 µg/ml.

Dosage.

Tous les tubes bouchés émeri préalablement lavés au mélange sulfochromique :

1 - SO_4H_2/borate 1 ml.
Solution à doser 0,20 ml.
2 - Bain-marie 100° C - 10 minutes.
3 - Refroidir, puis solution de carbazole 0,05 ml.
4 - Bain-marie bouillant - 15 minutes - tubes bouchés.
5 - Lecture au spectrophotomètre à 530 mµ.

La courbe d'étalonnage est faite sur des concentrations en acides glycuroniques allant de 0 à 0,04 µg (0 à 200 µl de la solution précédente diluée au 1/50).

Discussion.

Les interférences que peuvent déterminer la présence de fortes concentrations de sucres autres que les acides uroniques, n'entrent pas en jeu ici. Cependant, les différents acides uroniques ne réagissent pas de la même façon. En particulier ici, l'acide L iduronique donne des valeurs beaucoup plus basses que l'acide glycuronique.

La nature des mucopolysaccharides semble également intervenir. L'héparine par exemple, donne une valeur plus forte que ne l'indique son contenu réel en acide glycuronique.

D'autres méthodes permettent de doser les acides uroniques. Nous ne les décrirons pas ici, car elles sont beaucoup moins utilisées.

- Il s'agit de la réaction colorée avec le métaphénylphénol (1%) modifié (5%).
- De la réaction colorée avec le naphtarésorcinol de TOLLENS (1%), mais qui, en fait ne donne des résultats satisfaisants qu'avec les acides uroniques libres et non avec les polyuronides.
- Et de la détermination du CO_2 libéré par un traitement avec HCl 12 N à chaud (1+1).

La comparaison de ces méthodes permet de différencier la nature de l'acide uronique puisque l'acide uronique donne des résultats différents selon que l'on utilise la réaction au cystéine, ou ces deux dernières techniques, tandis que les résultats restent les mêmes s'il s'agit de l'acide glycuronique.

Dosage des sucres par la réaction à l'anthrone (28-49-97)

Principe.

Ce dosage permet de détecter le kerato sulfate. Il est basé sur la réaction bleue qui se produit avec les sucres quand ils sont en présence d'anthrone en milieu sulfurique (réaction furfuralique).

Réactifs.

Anthrone : 0,1 g dans 50 ml de SO_4H_2 concentré Merk.
A préparer extemporairement.

Dosage.

1 - Réactif d'anthrone 2 ml.
Prise d'essai 1 ml (au froid)
2 - Bain marie 100°C 10 minutes.
3 - Refroidir et lecture au spectrophotomètre à 620 mμ.

La solution étalon est réalisée en diluant au 1/50 une solution mère de glucose à 1,00 mg/ml.

Discussion.

La forme active du réactif est l'anthranolone, l'enol tautomère correspondant à l'anthrone. La coloration produite par le pentose est nettement plus faible que celle que donne le glucose ou ses dérivés.

Autres méthodes d'identification :

En général, on se contente des méthodes précédentes. Cependant, on peut citer deux cas dans certains cas, à utiliser d'autres moyens d'investigation que nous citerons ici :

1 - Dosage des radicaux sulfates.

La méthode la plus utilisée est la formation d'un sulfate de benzidine qui après diazotation donne une coloration spécifique (62). En fait, le dosage des sulfates est surtout important quand on étudie l'héparine puisque l'on sait à l'heure actuelle que ce mucopolysaccharide est constitué de différentes fractions qui se caractérisent à la fois par la teneur en S et par leur activité anticoagulante.

2 - Dosage de l'azote.

Les auteurs ont presque toujours utilisé le microdosage de KJELDAHL.

Cette revue rapide des moyens d'étude disponibles à l'heure actuelle pour séparer et identifier les mucopolysaccharides indique bien les difficultés que l'on rencontre.

Nous rapporterons deux techniques à titre d'exemple :

- celle de DI FERRANTE et RICH, car ce fut la première décrite pour analyser les mucopolysaccharides urinaires.

- l'autre, plus récente, due à G. BERNISON et S. DALFRING, car elle indique le travail considérable nécessaire pour tirer des conclusions valables dans l'étude de l'élimination des mucopolysaccharides.

I - TECHNIQUE DE DI FARRANT ET RICH (37-38)

Urines amenées à pH 5 (HCl 2 N) + bromure de cétyl tri méthyl ammonium 10 % (3° h - 4°)

↓

Précipité lavé par Ethanol saturé en ClNa.
puis dissous dans l'eau.

Centrifugation 45' - 7500 g.

↓

Surnageant

↓ + 2 volumes d'éthanol / NaCl

Précipité dissous dans l'eau.

↓ Dialysé 48 heures.

Fraction non dialysable

↓ Traitée par ethanol / NaCl

Précipité - protéines
+ mucopolysaccharides
dissous dans tampon phosphate 0,3 M, pH 7.7
puis traité par trypsine et papaine.
enfin, dialysé et centrifugé 7500 g.

Surnageant

↓ chloroforme + alcool amylique (2° -18 h).
centrifugation.

Surnageant

↓ évaporation à 10 ml.
3 volumes ethanol / ClNa (2° 24 h)
centrifugation.

Précipité

↓ dissous dans l'eau.

Fraction dialysable liphylisée

↓

MUCOPOLYSACCHARIDES.

Les auteurs partant de 2,5 litres d'urines purent ainsi au terme de ces multiples opérations recueillir 140 mg d'une substance incolore, soluble dans l'eau, et donnant une forte réaction métachromatique avec le bleu de toluidine et qui représente la fraction purifiée des mucopolysaccharides urinaires. On sait, en fait, qu'une fraction assez importante -environ 15 %- des mucopolysaccharides est ainsi été perdu au moment de la dialyse (voir p

L'analyse de cette fraction fut faite par :

- micro KJELDAHL pour l'N.
- par la réaction au carbazole de DISCHE pour les acides uroniques.
- par la réaction d'ELSON-MORGAN modifiée pour les hexosamines.

Des essais de séparation et d'identification furent réalisés -par chromatographie sur papier avec deux solvants différents :

- butanol, acide formique, eau
- et pyridine, isopropanol, acide acétique.

-par électrophorèse sur Tris au n° 3 dans un tampon acétate (pH 4,3).

-par analyse du spectre I R.

-par étude du pouvoir rotatoire .

-par incubation avec la hyaluronidase testiculaire.

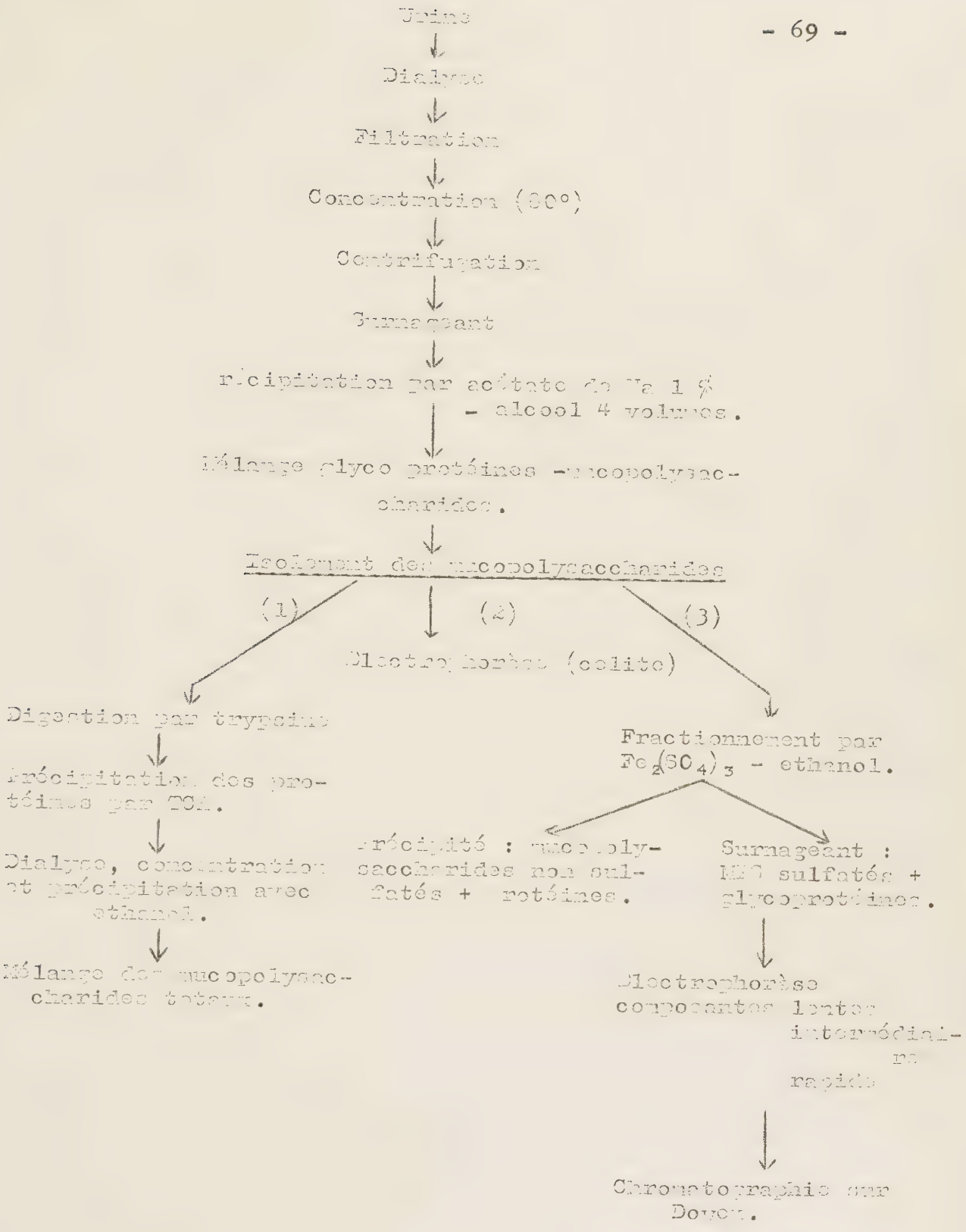
-par étude d'une éventuelle activité anticoagulante.

Les auteurs pouvaient conclure à cette époque que l'urine contenait en grande proportion un mucopolysaccharide sulfaté qui n'était pas le dermatane sulfate.

II - <u>METHODE DE L'AUTEUR DES MUCOPOLYSACCHARIDES URINAIRES PAR G. PEDERSON ET J. DALLNER (9)</u>

Ces auteurs ont étudié les urines de sujets normaux et de sujets atteints du syndrome de MARFAN et de la maladie de HURLER.

Ils isolent les mucopolysaccharides de la façon suivante :


Urine
Dialyse
Filtration
Concentration (30°)
Centrifugation
Surnageant
précipitation par acétate de Na 1 %
- alcool 4 volumes.
Mélange glyco protéines - mucopolysaccharides.
Isolement des mucopolysaccharides
(1)
(2)
(3)
Electrophorèse (collite)
Digestion par trypsine
précipitation des protéines par TCA.
Dialyse, concentration et précipitation avec éthanol.
Mélange des mucopolysaccharides totaux.
Fractionnement par Fe2(SO4)3 - éthanol.
précipité : mucopolysaccharides non sulfatés + protéines.
Surnageant : MPS sulfatés + glycoprotéines.
Electrophorèse
composantes lente intermédiaire rapide
Chromatographie sur Dowex.

Sur chaque fraction obtenue, les auteurs analysent les mucopolysaccharides par :

- leur pouvoir rotatoire.
- la détermination de l'azote (micro KJELDAHL).
- le dosage
  - des hexosamines
  - des acides uroniques
  - des sulfates.
  - de l'acide sialique
  - des hexoses
  - des protéines (BIURET ou LOWRY)

- l'étude des spectres I R de l'hydrolyse par la hyaluronidase.
- l'identification chromatographique :
  - des sucres
  - des amino sucres
  - des acides uroniques.

- des études électrophorétiques sur papier et acétate de cellulose.
- la détermination du rapport $\frac{\text{Ac glycuronique}}{\text{Ac L iduronique}}$

du rapport $\frac{\text{glucosamine}}{\text{galactosamine}}$

Les auteurs ont pu ainsi démontrer que l'urine normale contient en fait tous les représentants des mucopolysaccharides. Les déterminations qu'ils ont effectuées sont résumées dans le tableau suivant : (tableau n° 6)

Préparation initiale	Méthodes d'isolement		Analyses				Mucopolysaccharides
	Electrophorèse	Chromatographie sur colonne	Acide uronique (Rapport molaire di hexosamine = 1)	SO_4 (Rapport molaire di hexosamine = 1)	Hyaluronidase testiculaire	Chromatographie cellulose	
$Fe_2(SO_4)_3$ - Ethanol			1.02	1.18	Hydrolysé (+ trace non hydrolysée)	Galactosamine glucuronolactose L iduronolactose	Chondroitines sulfates 4 et 6 Dermatane sulfate ($8.8°$ h (1) $(\alpha)_D^{23}$ - 21)
Surnageant (MPS sulfatés)	Déplacement rapide	Glass-paper Fr I ($CaCl_2$-Ethanol Fr II					Chondroitine sulfate 6 (2) Chondroitine sulfate 4 (2)
	Déplacement intermédiaire	Glass paper NaH_2PO_4 - Ethanol	1.15	0.65	Résistant (traces hydrolysées)	Glucosamine glucuronolactose	Héparine sulfate
	Déplacement lent	idem		0.63	Résistant	glucosamine galactose	Kerato sulfate (3)
Précipité	Lent	Dowex 1_{x2}(4) Fr I	1.07	Trace	Partiellement	galactosamine - talosamine traces glucuronolactose	Chondroitine
		Fr II - III	1.1	0.43	idem	Galactosamine - talosamine glucuronolactose	Chondroitine (et talosamine contenant des MPS ?)

(1) Basé sur la détermination du contenu en acide iduronique- (2) I.R.- (3) Proportions molaires hexoses 0,96, hexosamines 1,0, acide uronique non détecté.- (4) NaCl en concentration croissante.- Fraction III obtenue à 1,0 M NaCl.

TROISIEME PARTIE

SYNDROMES PATHOLOGIQUES EN RAPPORT AVEC UNE ANOMALIE DE L'EXCRETION DES MUCOPOLYSACCHARIDES ACIDES

La pathologie des mucopolysaccharides décelée par les modifications de leur excrétion urinaire englobe actuellement un domaine relativement restreint : il s'agit de maladies héréditaires se manifestant essentiellement par une polydystrophie. La classification de ces syndromes n'est pas encore établie de façon définitive et comme nous le verrons, il subsiste même des cas où les différents auteurs ont des opinions divergentes. En fait, il s'agit surtout de deux maladies décrites déjà depuis plusieurs dizaines d'années :

1) la maladie de HURLER, d'une part,

2) la maladie de MORQUIO, d'autre part,

auxquelles sont venues s'ajouter très récemment d'autres syndromes très proches cliniquement, mais qui s'en différencient notamment par le type de mucopolysaccharides dont le métabolisme est perturbé.

Il s'agit en particulier :

3) de l'oligophrénie polydystrophique

4) du nanisme polydystrophique

5) et seulement pour certains auteurs du syndrome de MORQUIO ULLRICH.

En outre, d'autres maladies présentent des modifications de l'excrétion des mucopolysaccharides acides.

6) le syndrome de MARFAN

7) la maladie Exostosante

8) le rachitisme

9) et vraisemblablement d'autres maladies du squelette mais, qui à l'heure actuelle n'entrent pas dans le cadre, parce qu'elles n'ont pas encore été étudiées dans cet esprit.

Nous décrivons ici brièvement ces syndromes pathologiques en insistant surtout sur ces premières maladies héréditaires. Les descriptions que nous en ferons pour les 2 - 3 - et 4ème sont essentiellement dues aux articles que Pierre MAROTEAUX et Maurice LAMY ont fait paraitre, en 1963 et 1964, dans la Presse Médicale.

Ensuite seulement nous essaierons de faire le point sur les hypothèses pathogéniques qui sont à l'heure actuelle discutées.

I - MALADIE DE HURLER.(59-61-69-92-105-124)

La première description en a été faite au CANADA en 1917, par HUNTER (65) . Mais c'est Gertrud HURLER (66) de MUNICH, qui en a complété la symptomatologie (en 1919) et qui a donné son nom à cette polydystrophie. De nombreux cas ont été rapportés ultérieurement aux Etats-Unis, en Europe et au Japon. Le terme de gargoylisme a été proposé par ELLIS et Coll., en 1936.

La nature mucopolysaccharidique des granulations leucocytaires, signalées par ADLER, que l'on pensait formés de glycogène ou de glycoprotéines, a été démontrée histochimiquement en 1952, par BRANTE.

En 1957 et 1958, DORFMAN et LORINGS mettent en évidence dans les urines une élimination augmentée de deux mucopolysaccharides : l'héparine sulfate et le dermatane sulfate.

Enfin, en 1959, MEYER et HOFMAN insistent sur la répartition inégale de ces deux mucopolysaccharides dans les organes des malades.

Clinique

Cette polydystrophie, qui prédomine chez les garçons se caractérise par un ensemble de signes cliniques, très pathognomoniques.

Le faciès très particulier, avec ses traits lourds dénués d'expression,

- le front saillant avec souvent deux bosses surplombant les orbites,
- le nez large et évasé,
- les yeux saillants et écartés,
- les lèvres épaissies,
- la chevelure irrégulière,

auxquels s'associent une macroglossie et une dentition retardée.

La taille est généralement réduite avec :

- un thorax globuleux,
- un cou épais et raccourci,
- des clavicules saillantes,
- des membres diminués de longueur,
- des mains boudinées avec des doigts repliés en griffes et qu'il est impossible d'étendre,
- une limitation articulaire extrême.

L'abdomen est distendu, avec parfois une hernie (ombilicale ou inguinale) et souvent une hépatosplénomégalie qui s'accuse progressivement.

La vision est diminuée par une opacification cornéenne qui apparait avant deux ans, et là encore, ce symptome va en s'aggravant, pouvant aboutir à une cécité totale.

La voix est rude, surtout chez les enfants les plus agés.

L'audition est en général diminuée, bien que souvent, l'arriération mentale en rende le diagnostic difficile.

Le coeur peut montrer à la radiographie une augmentation de volume avec, à l'E C G, une hypertrophie G ou D.

La peau est souvent épaisse. Parfois, l'E E G est anormal et l'enfant présente alors souvent des convulsions.

Enfin, il faut noter l'importance du retard psychique de ces enfants qui pourtant, paraissaient normaux à la naissance.

La Radiographie montre :

- un crane augmenté dans tous ses diamètres avec un degré d'hydrocéphalie variable.
- une fosse pituitaire anormalement large et profonde.
- au niveau des vertèbres, une cyphose lombaire ou dorso lombaire qui est secondaire à la déformation d'une ou deux vertèbres (en général D_{12}-L_1 ou L_2) qui prend un aspect en éperon et qui entraine la bascule en arrière des vertèbres sus-jacentes. Parfois, on note également un crochet au niveau du corps vertébral.
- les cotes inférieures sont épaissies et déformées

en palette.

- La diaphyse des os longs est courte et élargie, les points épiphysaires apparaissent plus tardivement que normalement.
- les métacarpiens ont un aspect en pain de sucre.

L'examen du sang met en évidence des cellules particulières, dites de ADLER.(108) Ce sont des cellules à granulations spéciales le plus souvent de la lignée granulocytaire, mais aussi parfois lymphocytaire et monocytaire. Dans la moelle (79-123) outre ces cellules à granulation, on met en évidence des cellules à inclusions bien particulières (surtout histocytes et plasmocytes). Ces cellules dites de BUHOT sont considérés par certains auteurs comme pathognomonique de la maladie de HURLER.

L'évolution, en général, est fatale assez rapidement. Les différents symptomes vont en s'aggravant, aboutissant à une cécité parfois totale et un retard psychomoteur considérable.

La mort survient vers 20 ans, le plus souvent dans un tableau de défaillance cardiaque ou d'insuffisance respiratoire.

Anatomie Pathologique.

La maladie de HURLER est caractérisée :

1) par l'apparition de cellules spéciales dans le tissu conjonctif. Ces cellules sont :

- soit claires (vacuolées),
- soit parsemées d'amas métachromatiques, bien

visibles si le tissu est fixé par des fixateurs non aqueux. Le noyau est rejeté à la périphérie. Les inclusions graisseuses et les surcharges glycogéniques ne sont que secondaires.

Ces cellules se rencontrent surtout dans le parenchyme hépatique, le tissu ganglionnaire et les cellules gliales des centres nerveux.

2) De autre, les zones de croissance squelettique présentent des anomalies :

- des chondrocytes avec des surcharges typiques.
- une ostéogénèse arrêtée.

3) Enfin, il faut signaler l'existence :

- de valvules cardiaques un peu épaissies.
- de coronaires avec l'intima augmentée au point de parfois les boucher.
- de lésions cornéennes portant surtout sur le stroma.

Etude génétique.

Sans entrer dans les détails des modes de transmissions de la maladie, nous devons aujourd'hui distinguer deux types :

- l'un récessif autosomique.
- l'autre lié au sexe.

Cette dernière forme explique la prédominance du sexe masculin.

Du seul point de vue clinique, on peut noter une différence importante : les formes autosomiques présentent des opacités cornéennes importantes, qui peuvent faire presque totalement défaut dans la forme liée au sexe. L'évolution

dans ce dernier cas, serait plus prolongée. Les complications cardiaques y seraient cependant plus fréquentes.

Du point de vue chimique, il n'y a pas de différence qualitative dans l'excrétion et la surcharge des mucopolysaccharides. TERRY et LINTER donnent des valeurs plus basses d'héparine sulfate dans la forme lié au sexe, mais ceci n'est pas constant. LAMY et Coll. ont calculé la fréquence des formes liées au sexe : $i = 0,314 \pm 0,068$.

Etude Biochimique. (21-48-104)

Ce n'est donc, comme nous l'avons signalé plus haut, qu'après 1956 que le trouble des mucopolysaccharides fut décelé dans la maladie de HURLER. L'étude en fut essentiellement faite par DORFMAN (48) d'une part, et MEYER et Coll (104) d'autre part. Par la suite, on a identifié avec plus de certitude les types de mucopolysaccharides anormalement éliminés et tenté une différenciation et une classification biochimique des syndromes.

Dans la maladie de HURLER, il y a donc une augmentation du taux global des mucopolysaccharides urinaires et ceci aussi bien dans la forme autosomique que dans la forme liée au sexe. Le taux global dans l'urine varie entre 30 et 200 mg par litre. Cette augmentation concerne essentiellement deux types de mucopolysaccharides :

- le dermatane sulfate : 10 à 90 %
- l'héparine sulfate : 10 à 40 %

comme le montre ce tableau où sont rassemblés les cas de LAROCHE et LAMY. (92)

		Héparine	Dermatane sulfate
	Bouq.	39	61
Type récessif	Aut D	27	73
autosomal	Aut F	23	77
	Bel	5	95
	Bar M	19	81
	Bar V	30	70
	Fab G	26	74
	Fab J	19	81
Type récessif	Bois	23	77
lié au sexe	Vere	20	80
	Bou	27	73
	Aub	36	64
	Pech	20	80
	Bois	19	81
	Val	22	78

Tableau n° I - Les résultats sont donnés en pourcentage des mucopolysaccharides dosés.

TARREL et Coll. ont trouvé des rapports de MS_A/ créatinine variant de 21 à 113, alors que normalement le chiffre trouvé aux âges considérés ici ne dépasse jamais 20.

Par autre, on constate une surcharge de ces mêmes mucopolysaccharides dans différents organes, mais surtout dans le foie et la rate. Cependant, ici le rapport de deux mucopolysaccharides varie fortement non seulement d'un cas à l'autre, mais aussi de façon significative, d'un organe à l'autre. En effet, l'héparine sulfate prédomine dans le foie, alors que le dermatane sulfate est plus abondant dans la rate.

Nous rapportons ici des valeurs empruntées à MAIR et HOFFMAN : (105)

1)

Age		Foie %	Rate %	Cerveau %	Rein %
12	Dermatane sulfate Héparine sulfate	6 90	65 23	40 60	50 50
10	D. S. H. S.	56 44			
7	D. S. H. S.	5 90		40 30	
10	D. S. H. S.	6 94			
12	D. S. H. S.			85 15	
9	D. S. H. S.	29 71	75 13	71 29	
5	D. S. H. S.	22 78	84 16	55 10	48 30

Tableau n° 3 -

2) Etude d'un cas de maladie de HURLER (tableau n° 9)

Age : 5 ans 1/2

Sexe : Féminin

Urines : Mucopolysaccharides totaux 81 mg D. S. 90 %
H. S. 10 %

	MPStotal %pds sec	Derm. sulf.	Hép. sulf.	Ac. Chond. 4 et 6 sul.	H.A	KS	?
Foie	7,7	22	78				
Rate	3,3	84	16				
Cartilage costal	10,3	6	Dis-cutable	75	Disc.	19	
Cerveau	0,99	35	10		Trace	5	30
Rein	1,4	48	30				22
Peau	1,05	49			34		17

surtout chondroitine-6-sulfate par I.R.

3) Cas d'un enfant de 9 ans

Sexe : masculin.

	MPStotal %pds sec	Derm. sulf.	Hép. sulf.	Ac. Chond. 4 et 6 sul.	KS	?
Foie	7,0	29	71			
Rate	3,1	75	18			7
Cartilage costal	14,3	0,14	3	84	12	
Cerveau	1	71				29

Tube n° 10

Il faut noter que dans le cartilage costal de ces malades, l'héparine sulfate est pratiquement absent et le dermatane sulfate prédomine. Cependant, les deux types de mucopolysaccharides les plus abondants restent le chondroitine-4-sulfate et le kerato sulfate, qui y sont aux taux habituels.

Enfin, les mucopolysaccharides de la peau ne sont pas modifiés.

Les études entreprises chez les parents des sujets atteints et chez les frères et sœurs non atteints de la maladie n'ont jamais révélé l'anomalie des mucopolysaccharides.

KUNZ rapporte que la prédnisone qui n'amène aucune modification de l'excrétion de créatinine abaisse sensiblement le taux des mucopolysaccharides acides sans toutefois modifier le rapport Dermatane sulfate / Kératine sulfate dans les urines.

Il est probable que l'augmentation de l'excrétion des mucopolysaccharides précède l'apparition des signes cliniques.

Enfin, il faut noter qu'il n'existe aucune corrélation entre le taux des mucopolysaccharides urinaires et la gravité du syndrome clinique : d'ailleurs, certains cas ont été publiés où la symptomatologie clinique et radiologique était complète et où aucun trouble du métabolisme des mucopolysaccharides acides n'a pu être mis en évidence. (12-13)

De toute façon, il n'est pas certain que du point de vue biochimique, le seul désordre métabolique soit celui des mucopolysaccharides acides. Il se pourrait que d'autres substances, (notamment des sulfatides) soient perturbées. Des études sont en cours et pourront peut-être de réviser nos conceptions métaboliques actuelles.

II - OLIGOPHRENIE POLYDYSTROPHIQUE (105-61-125-91)

Ce n'est que récemment (1961) que K-MEYER a isolé sur des données biochimiques cette polydystrophie du cadre de la maladie de HURLER. En effet, en étudiant les mucopolysaccharides urinaires de deux enfants atteints de troubles rappelant de très près le gargoylisme, K-MEYER a constaté une augmentation portant seulement sur l'héparine sulfate.

Depuis d'autres auteurs ont rapporté des cas semblables : R.C. HARRIS (1961), SANFILIPPO (1963).

En 1964, P. MAROTEAUX et M. LAMY publient une étude sur cette nouvelle entité pathologique en insistant sur les caractères qui permettent de la distinguer du gargoglisme classique, caractères qui ne sont pas seulement biochimiques, mais aussi cliniques et radiologiques. Ils proposent le terme d'oligophrénie polydystrophique, ce qui traduit bien, d'une part, l'importance des troubles mentaux qui dominent ici le tableau clinique, mais aussi la parenté avec le gargoylisme par le terme polydystrophique.

Nous résumerons ici brièvement l'étude réalisée par les deux auteurs.

Cliniques.

La découverte de la maladie est en général faite à 2 ou 3 ans par l'apparition de troubles caractériels qui amènent les parents à consulter. Il y a arrêt ou même régression du développement psychomoteur alors que contrairement à ce qui peut se voir dans le syndrome de HURLER typique, les modifications morphologiques sont peu accusées ou inexistantes.

Il s'agit donc d'un enfant qui, normal au début de sa vie, va bientôt présenter un retard psychologique qui évolue rapidement vers une idiotie totale, ne parlant pas, ne s'intéressant à rien.

Les anomalies morphologiques n'apparaissent que secondairement. On note surtout les anomalies du crane et de la face qui rappellent la maladie de HURLER sans cependant réaliser l'aspect typique de gargouille.

- le développement statural est en général paradoxalement augmenté au début pour au contraire devenir insuffisant plus tard.

- Les mains ne sont pas en griffe.

- la limitation des articulations est minime, voire inexistante.

- la peau est parfois un peu épaissie avec dans certains cas, un hirsutisme.

- la cyphose lombaire fait défaut.

Par contre, on note généralement une hépatomégalie nette. Mais la rate n'est que rarement et modérément augmentée.

L'auscultation cardiaque est normale.

- Enfin, il faut signaler une diminution de l'audition qui reste cependant le plus souvent difficile à apprécier tant les troubles mentaux sont importants.

- il n'y a aucune atteinte cornéenne.

En résumé, on le voit facilement sur cette description, la clinique en elle-même permet de différencier assez nettement cette oligophrénie polydistrophique de la maladie de HURLER.

Du point de vue hématologique, MAROTEAUX ET LAMY ont retrouvé les cellules de GASSER identiques à celles du gargoylisme. De même, chez tous les malades, la moelle présentait de nombreuses cellules de BUHOT décrites plus haut à propos de la maladie de HURLER typique.

Etude radiologique.

Les anomalies intéressent surtout crane rachis et bassin .

Sans entrer dans les détails de ces modifications des images radiologiques, nous rapporterons seulement les conclusions de MAROTEAUX et LAMY qui signalent la grande analogie avec la maladie de HURLER, mais avec une atteinte toutefois plus discrète et certaines différences de détail qui permettent de ne pas confondre les deux maladies.

Etude génétique.

Tout comme la maladie de HURLER, il s'agit d'un processus pathologique à transmission héréditaire. Cependant, il s'agit ici uniquement d'une transmission récessive autosomique.

Etude biochimique.

Dans tous les cas publiés tant par HEYER, par SAUFFLIER que par MAROTEAUX et LAMY, on retrouve une augmentation nette des mucopolysaccharides urinaires allant pour les cas du dernier auteurs, de 30 mg/l à 141 mg/l.

Cependant, dans tous les cas, l'augmentation ne porte que sur un seul mucopolysaccharide acide, à savoir l'héparine sulfate.

	Héparine sulfate %	Dermatane sulfate %
Straw	100	0
Jame S	100	0
Jame C	100	0
Sal I	100	0
Sal II	100	0
Lant	100	0
Lev	100	0

Tableau n° 11 - (92) Résultats en % des mucopolysaccharides dosés.

Ainsi, on peut biochimiquement différencier cette maladie :

- de la maladie de HURLER ou, nous l'avons vu, l'augmentation porte à la fois sur l'héparine sulfate et sur le dermatane sulfate.

- de la maladie de MORQUIO (ou de MORQUIO-ULLRICH si on distingue deux cas) qui se caractérise par une augmentation du kérato sulfate.

- du nanisme polydystrophique qui se manifeste par une augmentation exclusive de dermatane sulfate.

Quant aux hypothèses pathogéniques, elles sont les mêmes que celles qui sont soulevées par la maladie de HURLER.

III - MALADIE DE MORQUIO ET MALADIE DE MORQUIO-ULLRICH

(89-56-26-144-147)

L'étude de ces deux maladies est faite dans un seul chapitre car, d'une part, les différences entre elles sont très minimes, et d'autre part, certains auteurs n'admettent pas actuellement cette dualité.

LA MALADIE DE MORQUIO

ou chondrodysplasie spondylo épiphysaire est une affection connue depuis 1929 et décrite pour la première fois par MORQUIO. Il s'agit d'enfants qui paraissent normaux le plus souvent dans les premiers mois, mais qui vers les 18 mois, 2 ans, inquiètent leurs parents par une déformation thoracique et des troubles locomoteurs.

Par la suite, le tableau devient tout-à-fait significatif réalisant un nanisme portant avant tout sur le tronc avec une protrusion sternale antérieure très importante. Les déformations des membres sont toujours considérables avec genu valgum, pieds plats, qui rendent la marche impossible ou très difficile (marche en canard). L'hyperlaxité ligamentaire est fréquente, cependant elle ne serait importante qu'au niveau des extrémités, contrastant avec la limitation des mouvements des articulations proximales (épaule, hanche)

Les malformations faciales s'associent toujours aux anomalies du tronc et des membres. Il y a protusion antérieure du massif facial inférieur anormalement développé avec, en outre, flexion en arrière de la tete.

L'étude dentaire montre des anomalies importantes : Elles sont généralisées, touchant les deux dentitions. La couronne présente sur toute sa hauteur des anomalies de calcification en forme de pointillés. L'émail est grisatre, mais sans modification du volume ni de la morphologie.

Radiologiquement

L'examen radiologique est d'un grand intérêt pour le diagnostic. Les lésions épiphysaires qui sont généralisées et symétriques sont surtout nettes au niveau de l'extrémité supérieure des fémurs. Le bassin montre un élargissement des cotyles avec un déplacement en valgus des cols fémoraux. Par la suite, les lésions à ce niveau s'accentuent avec de la coxalgie progressive de la tête fémorale et formation d'un néocotyle. Le col fémoral se réduit et son extrémité supérieure élargie devient irrégulièrement dentelée.

La dysplasie vertébrale s'exprime par un aplatissement des vertèbres qui s'accentue avec l'âge et un déplacement postérieur d'une ou deux vertèbres (en général D_{12} et L_1 ou L_2).

Au niveau des membres, on note une obliquité radiale et cubitale très caractéristique : le radius en bas et en dehors, le cubitus en bas et en dedans. Les métacarpiens ont un aspect conique (tout comme parfois les métatarsiens).

Enfin, MAROTEAUX et LAMY insistent sur une hypoplasie de l'apophyse odontoïde qui aurait un signe bien particulier à cette maladie et qui est mis sur des tomographies de la charnière occipito cervicale.

Evolution.

Tous les signes décrits s'accentuent avec l'âge et la croissance s'arrête vers l'âge de dix ans. La mort survient souvent de complications secondaires aux déformations osseuses : troubles respiratoires ou compression médullaire.

Etude génétique.

La transmission de la maladie se fait toujours sur le type récessif autosomique.

MALADIE DE MORQUIO ULLRICH

Avant de rapporter les arguments de MAROTEAUX et LAMY qui n'admettent pas cette dualité entre maladie de MORQUIO et de MORQUIO ULLRICH, il est nécessaire de décrire cette dernière.

Le nom de la maladie est du à WIEDEMANN (1954) qui rapporte un certain nombre de cas qui, cliniquement, se placent entre les maladies de HURLER et de MORQUIO. Cet entité nouvelle avait été décrite en fait la première fois par ULLRICH. Mais cet auteur pensait qu'il s'agissait d'une forme particulière de la maladie de HURLER. Par la suite, ZELLWEGER, puis surtout I. F. GOIDANICH et L. LENZI, en Italie ont publié des observations tendant à infirmer la thèse de WIEDERMANN.

Cliniquement, il s'agirait de malades présentant exactement les anomalies de la maladie de MORQUIO, mais auxquelles s'ajoutent d'autres malformations :

- opacité cornéenne surtout.
- soufle cardiaque.
- surdité.
- hépato splenomégalie.

Biochimiquement, le problème semblait parfaitement résolu puisque PENDRINI, LENZI et ZEMBOTT d'abord, puis DORFMANN ensuite mirent en évidence chez ces malades une augmentation importante des mucopolysaccharides portant essentiellement sur le kerato sulfate.

Cependant, MAROTEAUX et LAMY n'admettent pas ces faits. Ils pensent que tous les cas décrits par les auteurs ci-dessus font partie du syndrome de MORQUIO typique.

En effet, pour eux le tableau clinique de la maladie ne doit pas s'arrêter aux descriptions faites par MORQUIO. Chez tous les malades qu'ils ont pu examiner, ils ont en effet mis en évidence d'autres signes de façon constante :

- <u>des opacités cornéennes :</u> En effet, seul un examen spécialisé à la lampe à fente permet de les reconnaitre dans tous les cas. Ils les décrivent comme des opacités plus fines que dans le gargoylisme et très caractéristiques, disséminés dans le stroma cornéen. Parfois des dépots opaques plus volumineux s'y associent prédominant dans la couche sous épithéliale de la cornée.
- une hypoacousie souvent évidente, souvent seulement décelée par un audiogramme. Elle serait due à une anomalie de l'oreille moyenne et de l'oreille interne (modifications complexes des osselets) ainsi que le montrent les troubles de la conduction aérienne et de la conduction osseuse.

Ces auteurs n'ont jamais retrouvé de granulation de ADLER dans le sang ni de cellules de BUHOT dans la moelle.

La hépatosplénomégalie, et l'atteinte cardiaque sont absentes.

Quant au retard mental, il ne leur a pas paru plus fréquent que dans les syndromes voisins de la maladie de MORQUIO.

Du point de vue biochimique, chez tous les malades qu'ils avaient cliniquement et radiologiquement diagnostiqués, ils ont retrouvé une augmentation de l'élimination urinaire des mucopolysaccharides, due essentiellement au kerato sulfate avec seulement une légère augmentation des chondroitines-4 et 6

sulfates. La surcharge tissulaire fait défaut, comme l'ont montré des biopsies hépatiques et cornéenne. La fixation de ^{35}S sur une biopsie maintenue en survie s'est montré anormalement faible.

MAROTEAUX et LAMY ont d'ailleurs retrouvé dans la littérature 24 observations qui mentionnaient une opacité cornéenne et qui, de ce fait, furent surtout classées comme maladie de HURLER.

Quant aux cas qui ne montrent pas d'augmentation de mucopolysaccharides acides, ils pensent qu'ils sont à classer en dehors du cadre de la maladie de MORQUIO. Ces cas où existe une platyspondilie généralisée se distinguaient d'ailleurs cliniquement et radiologiquement :

- cliniquement : déformations thoraciques modérées, absence de dystrophie cranio-faciale et de genu valgum. Font également défaut l'opacité cornéenne et l'hypoacousie.
- La discrétion des signes cliniques explique la découverte plus tardive de la dystrophie, dont l'évolution est moins sévère.

- radiologiquement : il n'y a pas d'anomalies des vertèbres lombaires, d'anomalies radiocubitales ou métacarpiennes. Par contre, les altérations métaphysaires sont plus marquées et le raccourcissement des mains plus important. Enfin, la coxa valga est souvent remplacé par une coxa vara, voire meme par une absence presque totale du col fémoral.

Donc en résumé, deux théories :

La première qui distingue :

a) la maladie de MORQUIO, ou seul le système locomoteur est impliqué et ou l'excrétion urinaire de mucopolysaccharides acides est normale.
b) La maladie de MORQUIO ULLRICH, qui associe aux troubles osseux, des lésions cornéennes, une baisse de l'audition, une hépato splénomégalie et surtout la présence d'un taux urinaire très élevé de kerato-sulfate.

La deuxième, soutenue par MAROTEAUX et LAMY qui distinguent :

a) La maladie de MORQUIO ou s'associent aux troubles locomoteurs de façon constante une opacité cornéenne et une baisse de l'audition avec biochimiquement une augmentation constante de kerato sulfate.
b) Des cas divers de platyspondilie généralisée qui sont toujours distincts de la maladie de MORQUIO, cliniquement et radiologiquement, et ou l'élimination des kerato sulfates est augmentée ou non.

Quoiqu'il en soit du point de vue pathogénique, les hypothèses faites à propos de la maladie de HURLER restent valables dans tous les cas ou on décèle un trouble dans l'élimination urinaire des mucopolysaccharides.

IV - NANISME POLYDYSTROPHIQUE (82-64-143-69-90)

Le nom donné par MAROTEAUX et LAMY à cette maladie indique que cette nouvelle dysostose se caractérise essentiellement par un nanisme alors que dans l'oligophrénie polydystrophique étudiée plus haut, l'arriération mentale dominait le tableau clinique.

En fait, la distinction d'une nouvelle entité à coté de celles déjà décrites, notamment de la maladie de HURLER et de la maladie de MORQUIO, repose essentiellement sur un critère biochimique : l'excrétion accrue d'un seul mucopolysaccharide : le dermatane sulfate.

Nous donnerons ici les traits essentiels, cliniques et radiologiques, de cette maladie, tels qu'ils ont été décrits par MAROTEAUX et LAMY, en se basant sur une observation personnelle et sur celles de LIEBMAN et d'ULLRICH, et de WIEDERMANN.

Clinique.

Le nanisme domine le tableau, nanisme qui concerne à la fois le tronc et les membres.

Il s'accompagne d'une cyphose lombaire et d'une limitation articulaire.

Cependant, en station debout, on ne retrouve pas la flexion partielle des hanches, des genoux et du coude qui donnent aux sujets atteints, l'attitude simiesque si particulière.

Le genu valgum est accentué, mais les mains ne sont pas en griffe.

La déformation faciale existe, mais reste nettement moins marquée que dans la maladie de HURLER.

On note une hépatomégalie et une splénomégalie, des

opacités cornéennes, une baisse de l'audition.

Le développement psychique parait normal.

Enfin, il y a présence de cellules de ADLER dans le sang, mais absence de cellules de BUHOT dans la moelle.

L'étude radiologique est là encore, d'un grand intérêt, car sur elle repose la différenciation de ces cas d'avec la maladie de MORQUIO.

- au niveau des vertèbres, on retrouve un aplatissement généralisé, sans la déformation antérieure en languette caractéristique de la maladie de MORQUIO.

Il n'y a pas d'aplasie de l'apophyse odontoide comme celle que nous avons vue exister dans la maladie de MORQUIO.

Les cotes sont en palette.

- au niveau des os longs, les métaphyses ont une structure irrégulière et les épiphyses sont un peu déformées, surtout les tetes fémorales, qui sont fragmentées.

On retrouve, comme dans la maladie de MORQUIO, une obliquité du radius et du cubitus, mais par contre, la partie proximale des métacarpiens n'est pas conique.

- au niveau du crane, la selle turcique est déformée en omega et la lame quadrilataire élargie de profil, avec un bord supérieur concave.

Donc, en résumé, malgré des ressemblances avec la maladie de HURLER (crane et cotes) et avec celle de MORQUIO (vertèbres, genoux, mains), la radiologie différe cependant assez nettement de celle de ces deux syndromes.

Du point de vue génétique, on admet une transmission récessive autosomique.

Enfin, biochimiquement, l'augmentation des mucopolysaccharides acides urinaires est moins importante quantitativement, et surtout qualitativement : elle porte uniquement sur le dermatane sulfate, à l'exclusion de l'héparine sulfate.

Donc, il s'agit nettement d'un syndrome différent des autres décrits précédemment. Même du point de vue clinique, on peut remarquer certains faits qui permettraient de la distinguer de la maladie de MORQUIO. Le genu valgum, la brièveté du tronc et la protrusion sternale antérieure y sont moins accentués, tandis que la dysmorphie faciale est plus marquée.

En résumé, on peut schématiser ces différentes maladies par le tableau suivant.(92)

	Transmission génétique	Trbs. de la croissance	Opacités cornéennes	Détériorations mentales	M.S urinaires
HURLER	Récessif autosomique	+	+	++	Dermatane sulfate Héparine sulfate
	Récessif lié au sexe	+	-	++	Dermatane sulfate Héparine sulfate
POLYDYSTROPHIE OLIGOPHRENIQUE	Récessif autosomique	+	-	++	Héparine sulfate
FAMILIALE POLY-DYSTROPHIQUE	Récessif autosomique	+	+	-	Dermatane sulfate
MORQUIO	Récessif autosomique	++	+	-	Keratane sulfate

Tableau n° 12 -

AUTRES SYNDROMES AVEC AUGMENTATION DE L'EXCRETION DES MUCOPOLYSACCHARIDES ACIDES.

I - LE SYNDROME DE MARFAN (98-12-67)

Du point de vue clinique, il s'agit de malformations héréditaires touchant essentiellement les membres, surtout les extrémités. Avec allongement et amincissement des os en général associés à une grande laxité articulaire.

Parfois s'associent d'autres signes :
- cyphoscoliose,
- dolichocéphalie,
- malformations cardiaques,
- ectopie du cristallin,
- et divers troubles endocriniens.

Biochimiquement, le trouble des mucopolysaccharides n'est pas douteux. Cependant, les modifications de l'excrétion de ces substances sont plus discutées.

MULLER n'a jamais relevé une augmentation de leur élimination et rapporte seulement un taux très élevé de kerato sulfate dans le cartilage, rappelant ceux qui s'y trouvent au trouvent au cours du vieillissement normal (comme il a été ci-malé plus haut).

Par contre, BERENSON et SERRA d'une part, Mac KUSICK d'autre part, auraient mis en évidence une augmentation urinaire de l'acide hyaluronique et les chondroitines-4 et 6-sulfates.

II - LE RACHITISME (67)

Une étude récente faite par SARRONY et Coll. montre quelques anomalies au cours du rachitisme. Il y aurait une élimination globale plus faible chez les nourrissons rachitiques,

que chez le sujet normal. Cependant, il faut remarquer que la différence entre les cas de rachitisme (moyenne 8,36 mg) et les nourrissons normaux (9,30 mg/24 h) ne paraît pas très significative. Les auteurs rapportent par ailleurs que l'administration de vitamine D_2 fait baisser brutalement l'élimination urinaire des mucopolysaccharides et que cette élimination tend par la suite à retrouver des valeurs normales.

III - DYSCHONDROPLASIES HEREDITAIRES DEFORMANTES (diaphysaire Acladie) (84)

Dans deux cas, LORINCZ a retrouvé une augmentation urinaire des mucopolysaccharides qui semble toucher les chondroitines-4 et 6-sulfates.

IV - Il faut encore signaler une augmentation urinaire des mucopolysaccharides dans :

- le L C E (DE FARRANTE) (36)
- le lupus erythémateux. (39)
- le diabète (30)
- certaines formes de leucémie et de syndromes malins divers au cours des hépatites chroniques.

V - Enfin, il existe un grand nombre d'autres maladies où le métabolisme et la répartition des mucopolysaccharides acides sont modifiés mais on, jusqu'à présent du moins, il n'a pas été démontré de modifications urinaires. particulièrement :

- au cours des maladies rhumatismales, ce qui s'explique facilement en considérant le rôle de ces substances au niveau des articulations comme nous l'avons signalé plus haut.
- au cours de certaines affections cutanées, en rapport avec le taux important de mucopolysaccharides acides au niveau de la peau.
- dans le mixoedème myxédémateux et dans l'athérosclérose.

Les cellules du parenchyme hépatique retiendraient préférentiellement l'héparine sulfate alors que les cellules réticulo-endothéliales retiendraient le dermatane sulfate.

De toute façon, avant de savoir à quel mécanisme est dû le désordre métabolique des maladies impliquées dans cette étude, il faudra que les connaissances biochimiques des mucopolysaccharides acides soient nettement plus avancées. En particulier 2 points restent à élucider.

1) Le mécanisme de la synthèse du polymère formant le mucopolysaccharide et dont nous avons vu plus haut le peu de faits connus.

2) La nature et le mode de liaison de la protéine formant le complexe mucoprotéine. Ce complexe qui a surtout été étudié comme nous l'avons vu à propos des chondroitines sulfates reste encore dans ce cas, assez mystérieux. Quant au cas des complexes formés avec l'héparitine sulfate qui est impliquée dans la maladie de HURLER et avec le Kerato sulfate impliqué dans la maladie de MORQUIO, ils sont encore totalement inconnus.

De plus, d'un point de vue pathogénique, il faudra élucider les rapports qui existent entre le trouble métabolique de tel ou tel mucopolysaccharide et les processus aboutissant aux différents troubles de la maladie.

Etant donné la grande variété des types de structure des mucopolysaccharides acides et de leur répartition tissulaire, on pourrait s'attendre à rencontrer de nombreux syndromes héréditaires associés à un trouble du métabolisme des mucopolysaccharides acides. En réalité, nous avons vu que le nombre d'entités cliniques où un tel trouble a été constaté est peu nombreux. K. MEYER et A. HOFFMAN

INTERPRETATION : METABOLISME PATHOLOGIQUE DES MUCOPOLYSACCHARIDES.

Nous nous limiterons ici aux syndromes dystrophiques et héréditaires étudiés plus haut, les seuls pour lesquels un trouble métabolique fondamental des $M.S_A$ peut etre suspecté.

Il s'agit de maladies qui, du point de vue biochimique, présentent toutes une augmentation urinaire des mucopolysaccharides acides et une accumulation de ces substances au niveau de différents organes. Cependant, le taux d'excrétion n'est pas toujours parallèle au stockage dans l'organisme.

Ainsi, nous avons vu que dans la maladie de HURLER, le taux de dermatane sulfate et de l'héparine sulfate dans le foie et la rate est augmenté. Alors que dans la maladie de MORQUIO et au cours de l'oligophrénie dystrophique, on ne constate aucune surcharge.

Les connaissances encore réduites du métabolisme des mucopolysaccharides ne permettent évidemment pas, à l'heure actuelle, de déterminer le mécanisme physiopathologique qui induit le désordre métabolique. Toutefois, K. MEYER et L. HOFFMAN, (105), d'une part, A. DORFMAN, (46), d'autre part, ont émis un certain nombre d'hypothèses que nous rapporterons ici.

1° La naissance d'enfants pratiquement normaux serait due aux très faibles taux de mucopolysaccharides chez l'embryon. Cette interprétation reste à prouver, mais on sait que la peau de porc du nouveau-né contient un taux de dermatane sulfate bien plus faible que la peau du porc adulte.

2° Un défaut d'un système enzymatique participant à la dégradation peut être envisagé : il s'agirait de l'absence ou de la non activité d'un enzyme : dans ce cas, les mucopolysaccharides acides n'étant plus dégradés à l'intérieur même des tissus où ils sont élaborés passeraient dans la circulation avant d'être éliminés dans les urines.

Cependant, puisque dans le syndrome de HURLER 2 mucopolysaccharides acides de structure très différentes sont impliqués, il faudrait qu'un tel enzyme intervienne à la fois dans la dégradation de ces deux substances. Ce mécanisme semble ainsi fort peu probable, car on voit mal un enzyme unique spécifique de deux substrats aussi différents que le sont le dermatane sulfate et l'héparine sulfate. En tout cas, cette double spécificité n'est pas actuellement établie.

D'ailleurs, on ne connait chez les organismes supérieurs aucun enzyme qui soit capable de dégrader ces deux substances et nous avons vu que de tels enzymes d'hydrolyse n'ont été mis en évidence que chez les micro organismes.

3° Le fait que les maladies étudiées soient héréditaires peut évidemment laisser penser que le trouble responsable est un défaut génétique concernant la synthèse soit directement des mucopolysaccharides, soit de la protéine qui leur est associée. Au symposium de New-York de 1964 sur les macro molécules du tissu conjonctif, les différents auteurs ont tous affirmé qu'ils ne pensaient pas que la biosynthèse des mucopolysaccharides acides soit directement sous contrôle génétique. En tout cas, les expériences réalisées tendent à démontrer ce fait, puisque une fois les enzymes présents, la polymérisation de ces molécules

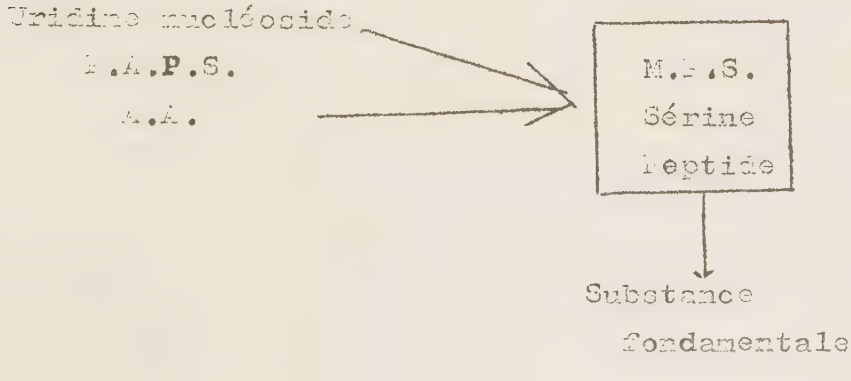
n'est plus influencée par la R'Ase, ni la D'Ase. Par contre, ces mêmes auteurs et particulièrement A. DORFMAN, pensent que la biosynthèse de la partie protéique doit être impliquée directement dans le mécanisme physio-pathologique de ces maladies.

DORFMAN a étudié les mucopolysaccharides anormaux de la maladie de HURLER et a trouvé que, dans les urines, ils sont liés à un peptide, mais que les résidus d'acides aminés sont nettement moins nombreux que ceux de la protéine qui est liée normalement aux mucopolysaccharides, du moins dans le cas connu du chondroitine sulfate de la peau humaine. Des résultats identiques furent retrouvés avec le dermatane sulfate de la rate d'un cas de maladie de HURLER.

Ainsi, il existerait une modification au niveau de la protéine ou plutot au niveau de la liaison entre la protéine et l'oside. La surproduction secondaire de mucopolysaccharide serait donc due à un mécanisme de régulation enzymatique avec intervention d'un gène régulateur.

On peut représenter schématiquement ce phénomène de la façon suivante :

a) dans le cas normal :



b) dans le syndrome de Hurler :

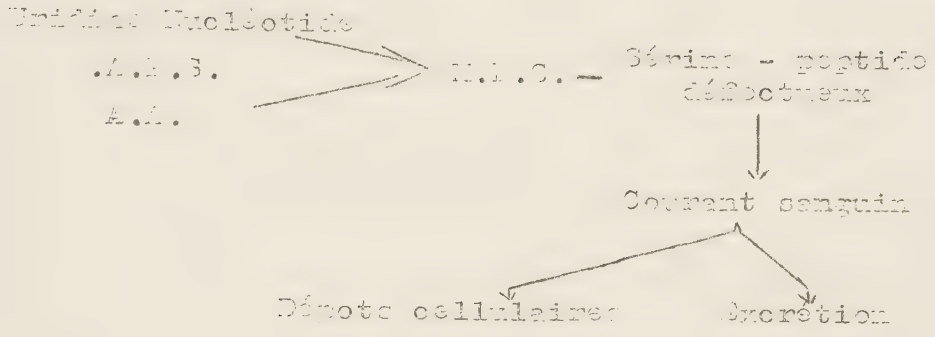


Figure n°

Le complexe polyoside-peptide défectueux diffuserait alors dans le sang, d'où surproduction secondaire par un mécanisme de "feed back".

Pour DORFMAN, ce mécanisme pourrait etre très général dans de nombreuses maladies héréditaires et ce défaut au niveau de la liaison entre les lipides et les protéines interviendrait notamment dans les lipoidoses.

Cependant, meme en admettant que cette hypothèse soit valable, il resterait à expliquer plusieurs points :

Par exemple, pourquoi y aurait-il ainsi deux mucopolysaccharides acides augmentés dans la maladie de HURLER ? Cette question ne peut évidemment etre élucidée tant que l'on ne connaitra pas le type de liaison entre la protéine et l'héparine sulfate.

Par ailleurs, pourquoi y a-t-il deux formes génétiquement différentes dans cette meme maladie, l'une récessive autosomique et l'autre récessive liée au sexe ? Y a t-il mutation de 2 chromosomes différents ?

Pour expliquer cette hypothèse, on doit admettre que les mucopolysaccharides acides ne sont sous contrôle génétique que parce que la portion protéique du complexe mucoprotéique d'une part et les différents enzymes qui interviennent à tous les niveaux de leur synthèse d'autre part, le sont comme toutes les protéines dans les théories actuelles de la synthèse protéique. En définitive, physiologiquement ce serait par des mécanismes de contrôle d'inhibition et de répression enzymatique que s'expliqueraient les différences qualitatives des mucopolysaccharides d'un tissu à un autre et même au sein d'un même tissu au cours de vieillissement.

4° On peut encore évoquer une altération du mécanisme de la différenciation embryonnaire des cellules de la lignée mésenchymateuse conduisant à un nombre anormal et à des ratios anormaux de cellules spécialisées dans la production des mucopolysaccharides. En faveur de cette hypothèse, on a invoqué le rapport relativement constant dermatane sulfate / héparine sulfate dans les urines de la maladie de HURLER.

Cependant, aucun fait précis ne peut le prouver en ce moment et il serait de toutes façons nécessaire d'admettre dans ce cas, les deux mucopolysaccharides intéressés dans la maladie de HURLER possèdent un précurseur commun.

5° Enfin, il pourrait s'agir d'une maladie du système des vaisseaux sanguins. Les cellules mésenchymateuses incorporeraient les 2 mucopolysaccharides circulants. Ceci pourrait expliquer la distribution inégale des mucopolysaccharides dans les organes des malades atteints de la maladie de HURLER.

fournissent à cette limitation deux raisons :

1° Les défauts génétiques importants touchant à la biosynthèse de ces composés doivent etre létaux.

2° Les défauts mineurs ne sont pas reconnus du fait des difficultés techniques de détection de ces substances.

CONCLUSION

Les mucopolysaccharides acides dans l'organisme forment des complexes macro moléculaires avec des protéines. L'étude de leur structure, de leur métabolisme et de leur signification physio pathologique n'a guère débuté que depuis une quinzaine d'années.

L'enchaînement osidique des divers mucopolysaccharides acides isolés de nombreux tissus est actuellement bien défini, mais le mode de liaison avec la protéine et la structure primaire de celle-ci sont encore incertains.

Leur role physiologique est encore imparfaitement élucidé. Constituants constants du ciment interfibrillaire des tissus collagéniques, ils assurent avant tout un role de cohésion particulièrement au niveau des tissus ayant une action mécanique prédominante : tendon, os, peau.

Les étapes successives de la biogénèse des chaines mucopolysaccharidiques sont à peu près établies, mais les mécanismes de leur dégradation, surtout chez les animaux supérieurs ne sont pas entièrement précisés. Au cours du renouvellement tissulaire, les mucopolysaccharides libérés sont en partie éliminés par le rein, en partie dégradés.

Du point de vue clinique, les études ont porté à peu près exclusivement sur les fractions non déminées apparaissant dans les urines. DI FERRANTE et RICH ont les premiers étudié l'élimination urinaire des mucopolysaccharides. On peut actuellement préciser le taux d'élimination normale qui est inférieur à 15 mg pour 100 ml d'urine - plus élevé chez l'enfant que chez l'adulte et chez l'homme que chez la femme.

Les techniques d'étude permettent aujourd'hui de bien individualiser les différents constituants mucopolysaccharidiques. Tous les mucopolysaccharides acides se retrouvent dans les urines du sujet normal. Cependant, c'est surtout l'acide chondroitine-4-sulfurique (environ 80 %), l'acide dermatane sulfurique (environ 10 %) et l'héparitine sulfate (environ 10 %) qui sont ainsi éliminés sans destruction préalable de leur molécule. Ces techniques sont délicates et très laborieuses. Ceci explique le nombre réduit de travaux qui déterminent les variations quantitatives et surtout qualitatives des mucopolysaccharides acides en pathologie.

Dans un certain nombre de maladies héréditaires, on a pu associer aux manifestations cliniques des perturbations du métabolisme des mucopolysaccharides acides, décelables par l'analyse de l'excrétion urinaire. Il s'agit de syndromes dont les deux composantes essentielles sont une atteinte osseuse polydystrophique et un retard psychique important. On distingue :

- la maladie de HURLER
- la maladie de MORQUIO
- l'oligophrénie polydystrophique
- le nanisme polydystrophique
- et, pour certains auteurs seulement, le syndrome de MORQUIO-ULLRICH.

Une classification biochimique a été proposée, qui repose sur le type de mucopolysaccharides anormalement excrété. Elle est partiellement en accord avec les classifications cliniques antérieurement établies.

Selon l'hypothèse qui semble à ce jour la plus vraisemblable, l'élimination exagérée de certains mucopolysaccharides acides serait la conséquence d'un défaut de formation du complexe (mucopolysaccharide-protéine), par trouble de synthèse de la fraction protéique. Mais la validation de cette hypothèse se heurte actuellement à notre ignorance sur la structure de ces protéines et sur leur mode de liaison.

D'autres cas pathologiques ont été récemment rapportés ou existe une excrétion anormale des mucopolysaccharides acides. Il peut s'agir de maladies ou les modifications des mucopolysaccharides seraient là aussi, le facteur primitif comme le syndrome de MARFAN ou certaines dyschondroplasies déformantes. Par contre, dans de nombreux cas, l'augmentation globale de l'élimination urinaire des mucopolysaccharides ne traduit qu'un désordre du tissu conjonctif au sens le plus large. La perturbation métabolique de ces polymères ne représente ici qu'un effet secondaire et ne doit plus etre considérée comme la cause d'un désordre pathologique.

De nombreux points restent encore à élucider, non seulement sur le plan purement biochimique, mais aussi sur les rapports entre le métabolisme des mucopolysaccharides acides et les syndromes pathologiques qui peuvent en découler.

BIBLIOGRAPHIE

Mucopolysaccharides

BRIMACOMBE J.J. et WEBBER J.M.

MTP Library - volume 6

Elsevier publishing company - 1964.

International review of Connective tissue research

volume 2, 1964

Academic press - New York and London.

p. 101 à 145 - Chemistry and metabolism of connective tissue glycosaminoglycans.

MUIR H.

Connective tissue : intercellular macromolecules

J. et A. CHURCHILL Ltd ; London 1964.

Structure and function of connective and skeletal tissue.

London - Butterworths - 1965.

Advance in clinical chemistry

volume 7 - 1964.

Academic press.

Mucopolysaccharides in disease.

J.J. BRIMACOMBE et M. STACEY

pages 199 à 234.

Vu, le Président de Thèse :

Professeur CARTIER

Vu, le Doyen de la Faculté :

Professeur G. BROUET

Vu et permis d'imprimer :

Le Recteur de l'Académie de Paris

Jean ROCHE

BIBLIOGRAPHIE

1 - D'ABRAMO F. et LILLIAN F. - B.B.A., 1957, 25, 211.

2 - ANDERSON B., HOFMANN K. et MEYER K. - B.B.A., 1963, 74, 309.

3 - ANTONOPOULOS, GARDELL S. et Coll. - B.B.A., 1964, 83, 1.

4 - ANTONOPOULOS C.A., DORCLINS D., GARDELL S., HANNSTROM B. et SCOTT J.E. - B.B.A., 1961, 54, 413.

5 - BADDILEY J. et BUCHANAN J.R. - Quart. Rev. Chem. Soc., (London) 1958, 12, 152.

6 - BECKER et DAY M. - J.B.C., 1953, 201, 795.

7 - ROBINSON G.S. et DALFERES E.R. - a) B.B.A. 1962, 58, 34 - b) B.B.A., 1965, 101, 183.

8 - ROBINSON G.S., DALFERES J.R. et EDWARD R. - B.B.A., 1965, 101, 183, 192.

9 - BERMAN - B.B.A., 1962, 58, 120.

10 - BERNADI G. - B.B.A., 1957, 47, 26.

11 - BERNARDI G. - Nature, 1957, 180, 93.

12 - ROBINSON G.S. et SERRA M.T. - Fed. Proc., 1959, 18, 190.

13 - BERRY H.K. et SCHLENGER J. - J. Lab. Clin. Med., 1960, 55, 136.

14 - DISHEL M.D., AUSTIN J.H., KELLEY M.D., HUBBLE C.M. et LEAR R.K. - Journal of Chromato. - 1966, 21, 40.

15 - BITTER J. et EDWINS R. - Lab. Practice - 1963, 12, 918.

16 - BOAS N.F. - J.B.C., 1953, 204, 553.

17 - BRIMACOMBE J. et WEBER J. - Mucopolysaccharides - B.B.A. Library, volume 6.

18 - BROWN A.H. - Arch. Biochem. - 1946, 11, 429.

19 - BRYANT J.W., LEDER I.G. et STETTEN D. - Arch. Bioch. Biophys. 1958, 122, 76.

20 - CALLAHAN M.J. et Coll. - J.B.C. - 1957, 229, 279.

21 - CAMPBELL J.N. et Coll. - [illegible] - 1961, 108, 529.

22 - CAMPO R.D. et DZIEWIATKOSKIS - J.B.C. - 1963, 237, 2729.

23 - CASTOR C.W. et DORSTEWITZ E.L. - J. Chromato. - 1964, 13, 157.

24 - CHARALAMPOUS F.C. et LYRAS C.J. - J.B.C. - 1957, 228, 1.

25 - CIFONELLI J.A. et DORFMAN A. - Fed. Proc. - 1955, 14, 193.

26 - CLEMENT R. - P.M. - 1964, 3107.

27 - COLIN J. et POLONOVSKI C. - Exploration Biologique en Pédiatrie - Expansion Scientifique Française - p. 403-6.

28 - COLOWICK S.P. et KAPLAN N.O. - Méthode in Enzymologie - Academic Press Inc. Publishers, New York, 1957.

29 - CONSDEN R. et BIRD R. - Nature - 1954, 173, 996.

30 - CRADDOCK J.G. et KERBY G.P. - J. Lab. Clin. Med. - 1955, 46, 193.

31 - DALLEMAGNE M.J. - "Handbuch der Experimentallen Pharmakologie" - p. 307.

32 - DALLEMAGNE M.J. - "Handbuch der Experimentallen Pharmakologie" - p. 161.

33 - DAVIDSON E. et JACOBSON B. - J.B.C. - 1962, 237, 635.

34 - DAVIDSON E. et JACOBSON B. - J.B.C. - 1962, 237, 638.

35 - DAVIDSON E. et SMALL - B.B.A. - 1963, 69, p. 445, 453, 459.

36 - DI FARRANTE N. - J. Clin. Invest. - 1957, 36, 1516.

37 - DI FARRANTE N. et RICH N. - Clin. Chim. Acta - 1956, 1, 519.

38 - DI FARRANTE N. et RICH N. - J. Lab. Clin. Med. - 1956, 48, 491.

39 - DI FARRANTE N., ROBBINS W, RICH C. - J. Lab. Clin. Med. 1957, 50, 897.

40 - DISCHE Z. - J.B.C. - 1947, 167, 189.

41 - DODGSON K.S. et LLOYD A.G. - B.J. - 1957, 66, 532.

42 - DODGSON K.S. et LLOYD A.G. et WESTWOOD F.G. - Journal of Chromato. - 1966, 21, 12.

43 - DORFMAN A. - Bioph. J. - 1964, n° 1.

44 - DORFMAN A. - "Structure and functions of connective and skeletal tissue" - London - p. 297.

45 - DORFMAN A. - Médecine - 1958, 12, 575 - 89.

46 - DORFMAN A. - "Connective tissue : intercellular macromolecules" J. et A. CHURCHILL Ltd., London, 1964.

47 - DORFMAN A. et Coll. - J.B.C. - 1954, 211, 717.

48 - DORFMAN A. et LORINCZ A.E. - Proc. Nat. Acad. Sc. - 1957, 43, 443.

49 - DRYWOOD R. - Ind. Eng. Chem. Anal. Ed. - 1946, 18, 499.

50 - DUBORTH D.G. et KEKI J.K. - J. Am. Chem. Soc. - 1952, 74, 3199.

51 - EFFERT L. - Arkiv. Kemi - 1956, 10, 345.

52 - ELSON L.A. et MORGAN W.T.J. - Bioch. J. - 1933, 27, 1824.

53 - GARDELL S. - Arkiv. Kemi - 1952, 4, 449.

54 - GIBIAN H. - F. deutsche, Wum, 1959.

55 - GLICK D. et STOCKDALE F. - B.B.A., 1964, 83, 51.

56 - GOLDMAISH I. et LENZI L. - The J. of Bone Surgery - Juin 1964, p. 734.

57 - GROILLIC M. et BANDITT V. - Naturwissenschaften - 1959, 46, 355.

58 - GROILLIC M., HOREDTT T. et STUHLSATT H.V. - Ed - 1964, 336, 149.

59 - GRIFFITH S.B. et FINDLAY M. - Arch. Dis. Childhood - 1958, 33, 229.

60 - GROSS J.I., MATHEWS M.B. et DORFMAN A. - J.B.C. - 1960, 235, 2889.

61 - HARRIS R.C. - Am. J. Dis. Child. - 1961, 102, 741.

62 - [illegible] A.H.J. - Protoplasma - 1956, 35, 574.

63 - HOLLMANN S. (Dusseldorf) - "Non glycolytic pathway of metabolism of glucose"- Academy Press, 1964.

64 - [illegible] H.J. et DELANO [illegible].J. - Am. J. Roentgen. - 1941, 46, 336.

65 - [illegible] R.C. - Proc. Roy. Soc. Med. - 1917, 10, 104.

66 - HURLER G. - Zschr. Kinderh. - 1919, 24, 220.

67 - ILLE [illegible]. et Coll. - Pédiatrie - 1964, 19, n° 6.

68 - [illegible] J. et VASSLER [illegible]. - Acta Chem. Scand. - 1952, 6, 313.

69 - JACKSON W.[illegible].J. - Arch. Dis. Childhood. - 1959, 26, 549.

70 - JACQUES L.B. et Coll. - J. Physiol. (London) - 1949, 109, 41.

71 - JEANLOZ R.W. - Advances in Enzymologie - 1963, 25, 443.

72 - JEANLOZ R.W. - Arthritis. Rheumat. - 1960, 3, 233.

73 - JEANLOZ R.W. - Exposé Annuel de Biochimie (Masson), 1963.

74 - JOURDIAN G.W., ROSEMAN S. et [illegible] F. - Fed. Proc. - 1961, 20, 161.

75 - KAPLAN D. et MEYER K. - Nature - 1959, 183, 1267.

76 - K[illegible] - J. Clin. Invest. - 1954, 33, 1168.

77 - [illegible] A. - Biochem. Biophys. Res. Comm. - 1962, 7, 346.

78 - KODICEK - "Structure and function of connective and skeletal tissue" - London, p. 314.

79 - LAMY, [illegible] et [illegible]ZELOF - [illegible].M. - 1959, 67, 1058.

80 - LELOIR L. - B.J. - 1964, 91, 1.

81 - LEVIS D.A. et TIMM F. - J. Am. Chem. Soc. - 1957, 79, 929.

82 - LIEBERMANN E. - Stoch. Kinderrh. - 1938, 39, 91.

83 - LLOYD J.G. - The amino acid L.S. Proteins complexe of the connective tissue. - Cardiff (mai 1963).

84 - LORINCZ A.E. - Fed. Proc. - 1960, 19, 1948.

85 - LOVTEN et ROGERS - B.J. - 1953, 53, 39.

86 - LOVTEN et ROGERS - Nature - 1955, 175, 435.

87 - MacKUSICK V. - "Hereditable disorders of connective tissue" - C.V. Mosby Company, St Louis, 1956.

88 - MARKOVITZ A. et DORFMAN A. - J.B.C. - 1962, 237, 273.

89 - MAROTEAU, LAMY et FOUCHER - P.M. - 1963, 44, 2091.

90 - MAROTEAU et LAMY - P.M. - 1963, 59.

91 - MAROTEAU et LAMY - P.M. - 1964, 72, 2991.

92 - MAROTEAU et LAMY - The Journal of Pediatrics - Aout 1965.

94 - MARX W. et SHOLTER L. - B.E.A. - 1960, 32, 123.

95 - MATHEWS M.B. - B.B.A. - 1961, 48, 402.

96 - MATHEWS M.B. et LOVAITITE - Arch. Biochem. Biophys. - 1958, 74, 158.

97 - MELVIN W.H. et SCOTT T.A. - Anal. Chem. - 1955, 25, 1656.

98 - MEYER K. - Exposé Annuel de Biochimie - 1963, p. 17.

99 - MEYER K. - Helv. Chem. Acta - 1948, 31, 1400.

100 - MEYER K. et Coll. - Proc. Soc. Exp. Biol. (New York) 1958, 97, 2275.

101 - MILLER E., ANDERSON A.J. et HOFMANN P. - J.B.C. - 1965, 240, 1005.

102 - MEYER K. et DAVIDSON E. - J.B.C. - 1954, 211, 605.

103 - MEYER K., DAVIDSON E., LINKER A. et HOFFMAN P. - B.B.A. - 1956, 21, 506.

104 - MEYER K., GRUMBACH A., LINKER A. et HOFFMAN P. - Pro. Soc. Exper. Biol. Med. - 1958, 97, 275.

105 - MEYER K. et HOFFMAN P. - Arthritis. Rheum. - 1961, 4, 552.

106 - MEYER K., KAPLAN D. et STEIGLEDER G.K. - Proc. Soc. Expl. Biol. Med. - 1961, 108, 59.

107 - MILLS, LOCHHEAD et SMITH H. - B.B.A. - 1958, 28, 211.

108 - MITTWOCH U. - Brit. J. Haemat. - 1959, 5, 365.

109 - MUIR H. - Biochem. J. - 1958, 69, 195.

110 - MUIR H. - "International Review of connective tissue research" - 1964, 2, 101.

111 - PARK J.J. et STROMINGER J.L. - Sciences - 1957, 125, 99.

112 - PATRIDGE S.M. - Biochem. J. - 1948, 43, 387.

113 - RIENITS K.G. - Biochem. J. - 1953, 53, 79.

114 - RINGERTZ N.R. et REICHARD P. - Acta Chem. Scand. - 1960, 14, 303.

115 - ROBB-SMITH A.H.T. - "General Pathology" - p. 331. LLYOD Luke - Ltd London, 1963.

116 - ROBBINS P.W. - J. Am. Chem. Soc. - 1956, 78, 2652.

117 - ROBBINS P.W. et LIPMANN F. - J. Am. Chem. Soc. - 1956, 78, 6409.

118 - RODEN L. - Arkiv. Kemi - 1956, 10, 333.

119 - RODEN L. et ARMAND - J.B.C. - Juin 1965, Décembre 1965.

120 - RODEN L. et DORFMAN A. - J.B.C. - 1958, 233, 1030.

121 - RODMAN . - American Journal of Medecine - May 1959, 749.

122 - ROSEMAN S., MOSES F.E., LUDOWIEG J. et DORFMAN A. - a) J.B.C. 1953, 203, 213. b) J.B.C. 1954, 206, 665.

123 - ROY R - Bone - 1959, 30-37.

124 - SAN FILLIPO S.J. et Coll. - Am. J. Dis. Child. - 1962, 104, 553.

125 - SAN FILLIPO S.J., GOOD R.A., PODOSIN R., SANGER L. - J. Ped. - 1963, 63, 837.

126 - SAUNDERS A.M. et THOMSEN S. - Nature - 1965, 205, 497.

127 - SCHMIDT M. - B.B.A. - 1962, 63, 346.

128 - SCHMIDT M. et DRAOCHOWSKI - B.B.A. - 1964, 83, 137.

129 - SCOTT J.E. - Methods of Biochemical Analysis - London, 8, 145.

130 - SHATTON et SHUBERT M. - J.B.C. - 1954, 211, 565.

131 - SHILLER S., SLOVER G.A. et DORFMAN A. - J.B.C. - 1961, 236, 938.

132 - SHUBERT M. - "Intracellular Macro Molecules containing PS." - New York - Symposium - 1964.

133 - SMITH H. et Coll. - R. Bioch. et Bioph. Acta - 1958, 28, 211.

134 - STROMINGER J.L. - Physiological Reviews - 1960, 55.

135 - STROMINGER J.L. - "Connective tissue : intercellular Macro Molecules" - London - J. et A. CHURCHILL Ltd.

137 - STROMINGER J.L., KALCKAR J., AXELROD J. et MAXWELL E. - J. Am. Soc. - 1954, 76, 6411.

138 - SUSUKI S. et STROMINGER J. - J.B.C. - 1960, 235, 257. J.B.C. - 1960, 235, 267. J.B.C. - 1960, 235, 274.

139 - TOPPER et LINTON - J.B.C. - 1953, 203, 135.

140 - THOMAS L. - J. Exp. Med. - 1956, 104, 245.

141 - TRACEY M.V. - Biochem. J. - 1948, 43, 135.

142 - TRUNDLE et MANN - B.B.A. - 1965, 101, 127.

143 - ULLRICH O. et WIEDEMANN R. - Klin. Wchnschr. - 1953, 31, 107.

144 - VOIGIN J., et VOIGIN R. - Encephale - 4, 221, 199.

145 - WEBBER R.V. et BAYTLEY S. - Can J. Biochem. Physiol. - 1956, 34, 993.

146 - WITHEHOUSE M.V. et LASH J.V. - Nature, 1961, 189, 37.

147 - ZELLWEGER H. et Coll. - J. Pediat. - 1961, 59, 549.

EDITIONS A.G.E.M.P.
8 RUE DANTE
- PARIS V° -
ODÉ 58-90